

マイクロパターン基板上の単一神経細胞間に形成されるシナプスの解析

Immunocytochemical analysis of synaptogenesis in micropatterned hippocampal neurons

○高沖 英里^{1,2}, 山本 英明^{1,2,3}, 松村 亮佑^{1,2}, 桂林 秀太郎⁴, 平野 愛弓^{1,2}, 庭野 道夫^{1,2,5}

H. Takaoki^{a,b}, H. Yamamoto^{a,b}, R. Matsumura^{a,b}, S. Katsurabayashi^c, A. Hirano-Iwata^{a,b}, M. Niwano^{a,b}

¹ 東北大院医工, ² CREST, JST, ³ 東北大学際研, ⁴ 福岡大薬, ⁵ 東北大通研

^a Tohoku Univ., ^b CREST, JST, ^c Fukuoka Univ.

E-mail: niwano@riec.tohoku.ac.jp

【緒言】脳の主要構成要素である神経細胞を人工的に培養した系は、脳機能を理解するための簡略なモデル系として利用されている。一般的な培養神経細胞においては、培養開始から1週間以内に信号伝達に必要なシナプス接合が形成され始める[1]。マイクロパターン上の培養神経細胞においても機能的なシナプスが形成されることは生理学的実験により確かめられているが[2]、成熟化のプロセスや通常の培養神経回路におけるシナプスとの違いは不明である。そこで本研究では、蛍光免疫染色法を用いて、①パターン上の神経細胞では培養何日目ごろからシナプスが形成されるのか、②細胞のどの部位にシナプスが形成されるのか、さらに、③シナプスの数や大きさが培養の継続に伴ってどのように変化するのか、を調べた。

【方法】細胞外基質ゲルとポリリジンを混合したタンパク質インクをマイクロコンタクトプリンティング法によりカバーガラス上に転写して、パターン基板を作製した[3]。胎生18日目のラット胎仔の海馬から神経細胞を摘出し、パターン基板上に播種し、アストロサイトと共培養した。培養6~10日後の細胞をMAP2(細胞体と樹状突起)、Synapsin 1(前シナプス)、PSD95(後シナプス)で三重染色し、形成されたシナプスを可視化した。

【結果と考察】単一細胞ごとに配列させた神経細胞におけるシナプス形成を免疫染色法により調べたところ、培養6日目以降でシナプス後細胞の樹状突起や細胞体にシナプスが形成されていた(右図)。さらに培養日数を経るとシナプスの数が増加し、個々のシナプスも大きくなっていく傾向が確認できた。発表では、これらの点についての詳細な解析や通常の培養神経回路との比較に加えて、それらのパターン形状依存性についても議論する。謝辞: 本研究は科研費・挑戦的萌芽研究(25600071)、基盤研究B(24350032)、研究活動スタート支援(25880021)の支援を受けて行われた。参考文献: [1] T.L. Fletcher et al., J Neurosci (1994). [2] A.K. Vogt et al., Biomaterials (2005). [3] A.K. Vogt et al., Biotechnol Prog (2003).

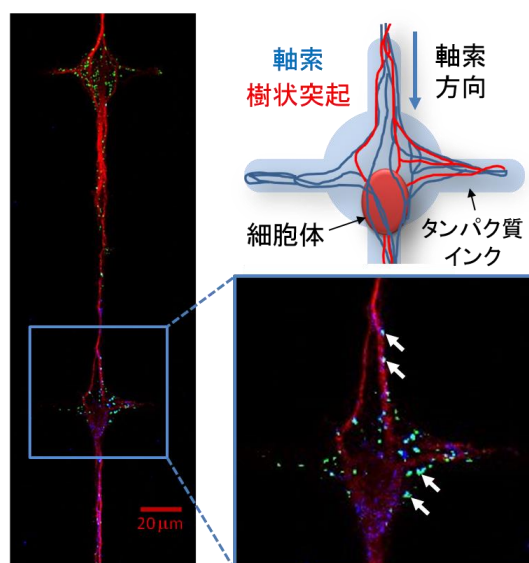


図. マイクロパターン上に培養したラット海馬神経細胞におけるシナプス形成。培養10日目の神経細胞をMAP2(赤), Synapsin 1(緑), PSD95(青)で染色した。Synapsin 1とPSD95が共局在し、シナプスと判定した主な箇所を矢印で示す。