

神経細胞パターンゲルフィルムによるバイオアッセイデバイスの構築

Neuronal Micropatterns Supported by Flexible Hydrogel Film for Constructing Bioassay Device

○平田 卓也, 岡本 滉平, 阿部 結奈, 長峯 邦明, 梶 弘和, 西澤 松彦 (東北大院工)

○Takuya Hirata, Kouhei Okamoto, Yuina Abe, Kuniaki Nagamine, Hirokazu Kaji,
Matsuhiko Nishizawa (Tohoku Univ.)

E-mail: hirata@biomems.mech.tohoku.ac.jp

1. 緒言

近年の幹細胞培養技術の進歩により、患者本人の細胞を用いた *in vitro* での病原解明、治療法・薬剤開発が現実味を帯びつつある。本研究では *in vitro* での細胞研究材料として、細胞をマイクロパターンしたハイドロゲルフィルムを開発した。柔軟で水分(培養液)を保持できる本フィルムで支持された細胞は、そのパターン構造、活性を維持しながら、搬送、変形させることが可能となる。これにより、細胞を培養後、異種の細胞同士を組み合わせることや、デバイスへと搬送し各種分析を行うことが可能になるなど、有用な細胞研究材料になると期待できる。特に分析デバイスへの応用は、培養に不適切なデバイス表面での細胞培養が必須であった従来の測定法を改善しようとする。本実験では、神経細胞パターンゲルフィルムを微小電極アレイへと貼付けることによる *in vitro* アッセイ方法を検討した。

2. 実験

細胞のパターニング手順、及び、バイオアッセイデバイスの構築について説明する。ハイドロゲルフィルムにはコラーゲンフィルム(厚さ $35\ \mu\text{m}$)を用いた。まず、パターン形状の凹凸を有する Poly(dimethylsiloxane)製スタンプ表面に細胞接着性タンパク質 Matrigel 溶液を滴下し、冷蔵で一晩吸着させた。それをコラーゲンフィルム上に軽く押し付け、室温で2時間静置することで Matrigel パターンをフィルムに吸着させた。PBS、及び培養液で洗浄後、細胞を播種し、 $37\ ^\circ\text{C}$ 、 $5\ \%$ CO_2 環境下で培養した。

作製したフィルムは微小電極アレイへと貼付け、細胞への局所電気刺激を実施した。図1に、神経細胞をグリッド状にパターニングしたフィルムを微小電極アレイに貼付けた様子を示す。Matrigel グリッドの間隔は $100\ \mu\text{m}$ 、ライン幅は $5\ \mu\text{m}$ に設計した。なお、本実験では神経細胞として、マウス神経芽細胞腫とラットグリリア腫のハイブリッド細胞株の運動ニューロン株 NG108-15 を用いた。

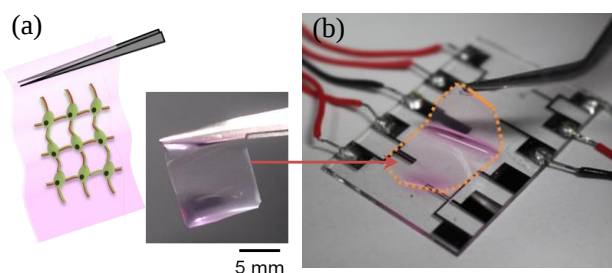


図1 (a)神経細胞パターンゲルフィルム。
(b)微小電極への細胞フィルム(点線部)の貼付け。

3. 結果・考察

図2に、局所電気刺激に伴う細胞内 Ca^{2+} 応答の計測結果を示す。微小電極直上の細胞体(1)に電気刺激を印加し、それに伴う細胞内 Ca^{2+} 濃度変化を蛍光イメージングした(図2a)。図2bは電気刺激印加後の細胞体(1)、(3)、及び神経突起(2)の蛍光輝度の経時変化である。まず、電極直上の細胞体(1)の Ca^{2+} 濃度が増加し、それに続いて、隣接する神経突起(2)、細胞体(3)の順に Ca^{2+} 濃度が増加した。以上の応答は神経細胞に典型的な応答であり、本測定法でもそれを計測できた。細胞パターンゲルフィルムを各種デバイスと組み合わせることで、有用な細胞研究材料としての応用が期待できる。

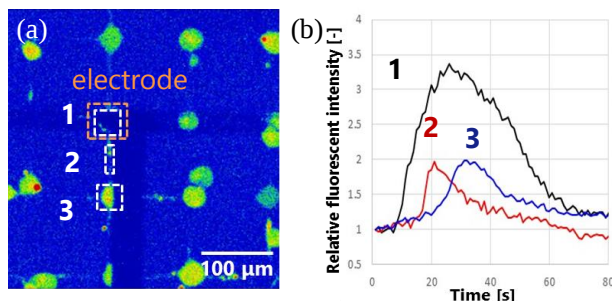


図2 (a)神経細胞パターンの Ca^{2+} 蛍光イメージ。
(b)電気刺激に対する神経細胞(1)、(3)、及び神経突起(2)の Ca^{2+} 応答。