

神経細胞ネットワークハイスループットスクリーニング装置に適した ネットワーク構造の開発

Development of the neuron network suitable for the neuron network high throughput screening device

○栗田 裕子¹、宇野 秀隆^{1,3}、王 志宏^{1,3}、吉村 由美子²、小松 由紀夫²、宇理須 恒雄^{1,3}
(名大・グリーンモビリティ¹、生理学研究所²、JST-CREST³)

°Yuko Kurita¹, Hidetaka Uno¹, Zhi-Hong Wang¹,
Yumiko Yoshimura², Yukio Komatsu², Tsuneo Urisu²
(Nagoya Univ. Green Mobility¹, NIPS², JST-CREST³)

E-mail: kurita.yuko@gvm.nagoya-u.ac.jp

難病とされる脳神経疾患の解析装置開発を目指して、プレーナーパッチクランプ技術を基盤とする神経細胞ネットワークのハイスループットスクリーニング装置の開発を進めている。神経伝達物質の自発的放出による微小シナプス電流の計測と Ca^{2+} イメージング計測を前提としている。この場合まず、適した神経細胞ネットワークの構造を決定しなくてはならないが、ネットワークに要求される性質は、(1) ハイスループット計測用に多点の計測点ごとにネットワークが準備できる、(2) 計測多点間でネットワーク特性のばらつきが、正常時と異常(疾患)時を明瞭に識別できるよう所定の範囲内に収まっている、(3) 各測定点でイオンチャンネル電流計測用の微細貫通孔の上に神経細胞を固定できる、などである。

当面、妊娠 17 日ラット胎児の脳皮質細胞からの初代培養を考えているが、細胞の種類が錐体細胞以外に多種類の介在ニューロンが含まれており、ネットワーク間で特性をそろえることが容易でないと予想される。そこで私たちは、(細胞間の凝集を避けるため) 希薄密度培養で、 Ca^{2+} イメージングの特性のばらつきがどの程度になるか、また、介在ニューロンがどのように影響しているかを調べることにした。 Ca^{2+} イメージング法で測定し、活動電位の自発的発生と播種密度との関係、及びその時に影響すると思われる抑制性細胞(介在ニューロン)の密度について調べた結果を報告する。播種密度 $1.2 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$ で酸化膜付き Si 基板上に形成したネットワークと介在ニューロンを免疫染色した蛍光顕微鏡像を図 1 に示す。

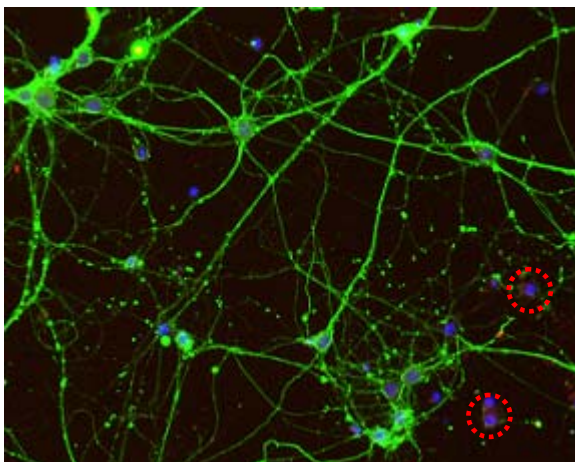


図 1

Si 基板上に形成した神経細胞ネットワーク。

播種密度 $1.2 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$

免疫染色

緑 (Tubulin AlexaFluor488)

薄赤 (Anti-GAD67/65 AlexaFluor594)

介在ニューロンと推測される。

○ マーク付き。