

集光フェムト秒レーザーを用いた単一細胞刺激による 神経細胞ネットワークの活動特性

Activity Property in a Neuronal Network Induced by a Femtosecond Laser-Based Stimulation of Single Neuron

○中川 裕太^{1,2}、工藤 卓²、田口 隆久³、細川 千絵^{1,2}

(1. 産総研 バイオメディカル、2. 関西学院大 理工、3. 情通機構 脳情報)

○Yuta Nakagawa¹, Suguru N. Kudoh², Takahisa Taguchi³, Chie Hosokawa^{1,2}

(1.AIST, 2.Kwansei Gakuin Univ., 3.NICT)

E-mail: chie-hosokawa@aist.go.jp

脳は、神経細胞から成る複雑な細胞ネットワークを構築しており、細胞間の情報伝達によって脳の情報処理を実現している。分散培養した神経細胞に於いても、自己組織的に細胞ネットワークが再構成され、外界からの入力に応じて神経細胞間の機能的結合特性が動的に変化することが見出されている。こうした神経細胞ネットワークの結合特性を明らかにするためには、特定の細胞を高精度に刺激することにより発生する神経活動の時間的、空間的パターンを解析する必要がある。我々は、細胞への付加的な影響がほとんどない状態で特定の細胞を操作する手法として、集光レーザービームの光摂動を用いた細胞操作技術の開発に取り組んでおり、神経細胞ネットワークの能動操作を実現しつつある。今回、集光フェムト秒レーザーを用いて単一神経細胞を刺激し、蛍光 Ca^{2+} イメージングにより神経細胞ネットワークの活動特性について検証した。

胚令 18 日目のラット胎児脳から摘出した海馬神経細胞を培養し、蛍光カルシウム指示薬

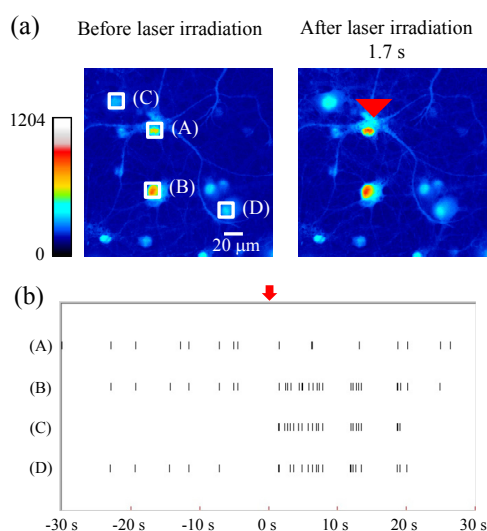


Fig. 1 Fluorescence images (a) and the raster plot (b) of the neuronal activity in a neuronal network loaded with Oregon Green BAPTA-1 before and after laser irradiation. The red arrows indicate the laser focus and laser irradiation timing, respectively.

Oregon Green BAPTA-1AM を負荷すると、自発的な神経活動に起因した細胞内 Ca^{2+} 濃度のスパイク状の変動が観測された。フェムト秒チタンサファイアレーザー(波長: 800 nm、パルス幅: 100 fs、繰り返し周波数: 82 MHz、レーザー光強度: 30 mW、レーザー照射時間: 8 ms)を正立顕微鏡に導入し、60 倍の対物レンズ(N.A. 1.0)を用いて神経細胞に集光すると、レーザー照射直後より細胞体において蛍光強度の増加がみられ、細胞内 Ca^{2+} 濃度の一過的な上昇が確認された (Fig. 1)。この現象に引き続いて、レーザー照射した神経細胞に近接する複数の細胞において蛍光強度の増加が確認され、神経活動の伝搬が誘発されたと考えられる。講演では、神経活動の同期性について評価した結果も併せて報告する。