マイクロコンタクトプリンティング法による生体分子パターニングと培養神経回路の構造制御

Stable culture of patterned neuronal networks on microcontact printed proteins

東北大学際研 [1]，東北大通研 [2]，東北大 AIMR[3]
○山本英明 [1]，松村亮佑 [2]，井手克哉 [2]，早川岳志 [2]，脇村 桂 [2]，庭野道夫 [2]，平野愛弓 [3,2]
FRIS[1], RIEC[2], and AIMR[3], Tohoku Univ.
○H. Yamamoto[1], R. Matsumura[2], K. Ide[2], T. Hayakawa[2], K. Wakimura[2], M. Niwano[2], A. Hirano-Iwata[3,2]
E-mail: hideaki.yamamoto.e3@tohoku.ac.jp

【緒言】生命科学の基礎研究そして創薬などの産業において，細胞パターニング技術の応用が拡がりを見せている[1]．製品として販売されているほとんどのパターニング用基板は，半導体リソグラフィを用いて作製されているが，サブミクロン精度が要求されず，またサンプル全体に渡る均質性が必ずしも要求されない実験では，マイクロコンタクトプリンティング(μCP)法が簡便な代替技術となる[2]．私たちはこの技術を用いて初代神経細胞のパターニング技術を試み，そして単一細胞[3]および数～数 100 細胞の単位[4]で神経回路の構造を制御するプロセスを確立することができたので，その方法と結果を報告する．

【実験方法】疎水化した Si ウェーハ表面にフォトレジスト AZ P4903 (厚さ約 18 μm)をパターニングして鋳型基板を作製した．調合した PDMS 液(Sylgard 184)をこの上に流し込み，脱気，ベークしてスタンプを作製した．”インク”は細胞外基質ゲルとポリリジンの混合液(PECM)を用い，これをアガロースもしくはオクタデシルシラン(OTS)被覆したスライドガラス上に転写した(図 1a)．神経細胞はラット胎児の大脳皮質もしくは海馬より採取し，この基板上に播種したのちに，グリア細胞との共存下で培養した．

【結果】PDMS 製スタンプで安定に転写できるパターン寸法は 5～10 μm 程度であった．この加工精度はフォトリソグラフィに比べると 1 桁大きいが，単一細胞をアレイ化し，神経突起を誘導するには十分な加工寸法である（図 1b）．

また数 100 μm サイズのパターンを転写し，その上で小規模な神経回路を形成させることもできた．μCP で作製した生体分子パターンの基板上での安定性は高く，200×200 μm^2 サイズのパターンの上で 58 日間に渡って初代神経細胞を継続培養し，その自発活動を計測することにも成功した．このようなパターン化神経細胞回路は，生体脳と数理モデルとを仲立ちする新規実験系となることが期待される．本研究は，科研費・若手研究(B)ならびに JST-CREST の助成を受けて実施された．

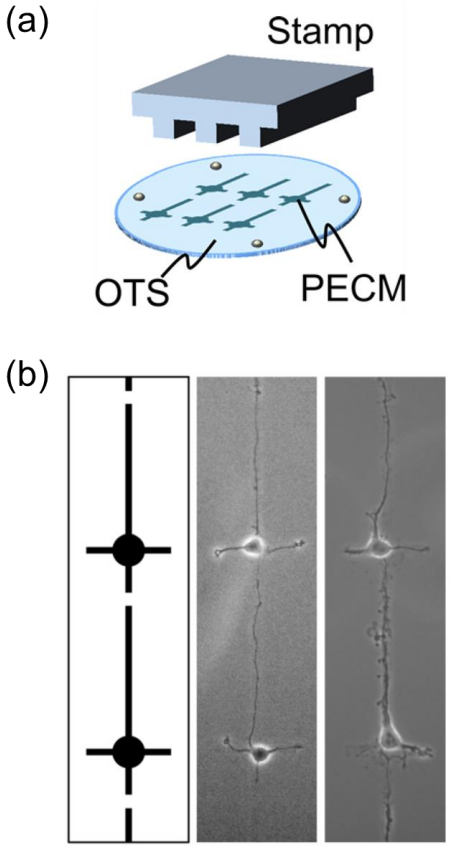

図 1. μCP による神経細胞パターニング[3]. (a)プロセスの模式図. (b) 左より，パターン形状，培養 1 日目，7 日目のラット海馬神経細胞.

参考文献：

[1] B. Zhang & M. Radisic, *Lab Chip* (2017) advance article.
[2] A. Offenhäusser et al., *Soft Matter* 3, 290-298 (2007).
[3] H. Yamamoto et al., *Appl. Phys. Lett.* 109, 043703 (2016).
[4] H. Yamamoto et al., *Phys. Rev. E* 94, 012407 (2016).

© 2017年 応用物理学会