

フェムト秒レーザー光刺激に伴う誘発応答の 細胞外電位計測と Ca^{2+} イメージングの同時計測

Extracellular Electrophysiological Recoding and Ca^{2+} Imaging of Neuronal Networks Evoked by Femtosecond Laser-Induced Stimulation

産総研 バイオメディカル¹, 関西学院大 理工², 情通機構 脳情報³

○藤岡 祐次^{1, 2}, 中川 裕太^{1, 2}, 工藤 卓², 田口 隆久³, 細川 千絵^{1, 2}

AIST¹, Kwansei Gakuin Univ.², NICT³

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

E-mail: yuji-fujioka@aist.go.jp

学習や記憶などの脳機能は神経回路網の時空間パターン変化により実現されており、神経回路の機能的結合は外部からの入力により動的に変化することが知られている。この結合特性を明らかにするためには、特定の細胞を刺激して誘発された神経活動の時空間パターンを解析する必要がある。我々は、単一神経細胞を非接触に刺激する手法として、フェムト秒レーザーを用いた細胞内局所刺激に取り組んでいる[1]。今回、細胞外電位計測と蛍光 Ca^{2+} イメージングとの同時計測により、フェムト秒レーザー光刺激に伴う神経回路網の誘発応答について検証した。

底面に 8×8 個の平面微小電極が配置された培養皿上でラット胎児由来海馬神経細胞を分散培養し、蛍光カルシウム指示薬 Oregon Green BAPTA-1 AM (OGB-1)を負荷すると、細胞内 Ca^{2+} 濃度の

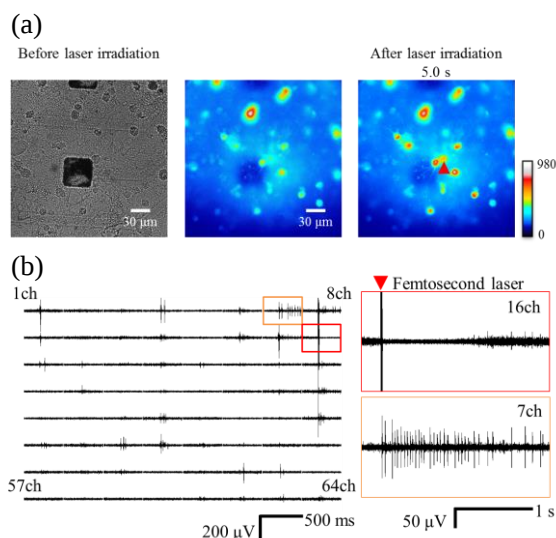


Fig. 1 Fluorescence images (a) and spatio-temporal activity patterns (b) in a neuronal network loaded with OGB-1 before and after laser irradiation. The red arrows indicate the laser focus and laser irradiation timing, respectively.

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(中心波長 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)を正立顕微鏡へ導入し、60 倍対物レンズ(N.A. 1.0)を用いて神経細胞に集光した。レーザー照射直後、細胞内 Ca^{2+} 濃度の急激な上昇が見られ、隣接する神経細胞においても細胞内 Ca^{2+} スパイク変動が確認された。フェムト秒レーザー照射に伴う神経細胞の細胞外電位変化と細胞内 Ca^{2+} 濃度変化との同時計測を行ったところ、レーザー照射直後において一過性の細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇が見られ、近接する電極上の細胞から高頻度の電位変化が観測された(Fig. 1)。以上の結果は、フェムト秒レーザー光刺激により、神経活動の伝搬が誘発されたことを示唆している。

[1] 中川他: 第 63 回 応用物理学会春季学術講演会, 21p-W331-11(2016).