

神経細胞パターニングのための薄膜型 PDMS マイクロ流路の開発

Fabrication of PDMS microfluidic film for patterning primary neurons

東北大通研¹ 東北大 AIMR²

○竹室汰貴¹, 山本英明¹, 脇村桂¹, 佐藤茂雄¹, 平野愛弓^{1,2}

RIEC¹ and AIMR², Tohoku Univ.

○T. Takemuro¹, H. Yamamoto¹, K. Wakimura¹, S. Sato¹, A. Hirano-Iwata^{1,2}

E-mail: taiki.takemuro.p5@dc.tohoku.ac.jp

【背景・目的】脳機能の基礎研究や新薬候補化合物のスクリーニングにおいて、培養細胞を用いた生体機能再現は重要な役割を担っている。しかし、神経細胞がランダムに接続した分散培養系と生体脳の神経活動には大きな差異が存在する。私たちはこの差異を埋めるべく、培養神経回路の構造を人工的に制御するための表面微細加工技術の開発を進めてきた。これまで私たちは、半導体リソグラフィ[1]やマイクロコンタクトプリンティング[2]によるバイオ界面制御技術を用いることで神経細胞のパターニングを行ってきた。しかし、当該技術の汎用性をさらに高めるためには、より簡易で高効率なパターニング法が必要である。本研究では、表面微細加工技術を応用し薄膜型 PDMS マイクロ流路を作製し、培養神経細胞のパターニングを行った。そして、生体神経回路の持つ特徴であるモジュール構造を有する培養神経回路を作製し、その機能計測を行ったので、その結果を報告する。

【実験方法】マイクロ流路を形成する際のモールドは、洗浄したシリコン基板にフォトリソグリス (SU-8 3010 および 3050) をパターニングして形成した。このモールドにゲル状の PDMS (polydimethylsiloxane) を挿入し、熱硬化した後に剥離した (図 1a)。この PDMS フィルムを洗浄・UV 滅菌し、poly-D-lysine をコートしたガラス基板に貼り付けることで細胞パターニングのための基板を作製した (図 1b)。パターンは $400 \times 400 \mu\text{m}^2$ の正方形パターンや、正方形 4 つに分割し $10 \mu\text{m}$ の直線で接続したモジュール構造型パターン[2]などを作製した。このようにして作製した基板上に胎生 18 日ラット大脳皮質から採取した神経細胞を播種し、培養 10 日目に、構築された回路の自発活動を蛍光 Ca イメージング法によって計測した。

【結果と考察】正方形パターン上に培養した神経細胞の様子を図 1c に示す。細胞体および神経突起は正方形内部にのみ存在しており、パターンの外側では成長していない。神経回路は、パターン形状ごとに同期性が異なる自発活動を見せた。モジュール構造型パターンにおいては、各モジュールが個別に発火する様子も確認できた。この結果は薄膜型 PDMS フィルムを用いることで、培養神経回路のモジュール構造などが簡易に制御できることを示している。今後、パターン間での刺激応答差異や自発発火と刺激応答の差異などの解析を進める予定である。

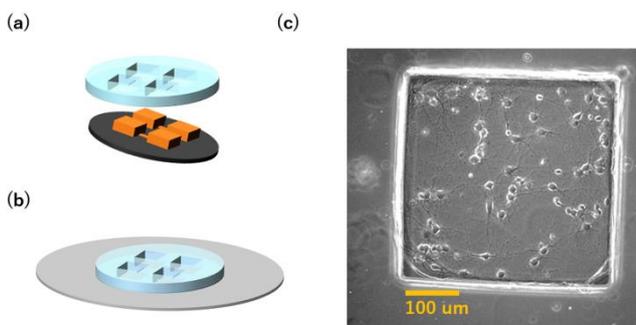


Fig. 1 : (a) Fabrication of PDMS microfluidic (b) Bonding to Poly-D-lysine coat Glass (c) patterning primary neurons ($400 \times 400 \mu\text{m}^2$)

[1] Yamamoto *et al.*, *Phys Rev E* **94**, 012407(2016).

[2] Yamamoto *et al.*, *Sci. Adv.* **4**, eaau4914 (2018).