

## 重水素置換グルタミン酸濃度に依存した神経自発活動解析



### Extracellular deuterium exchanged glutamate concentrations dependency of spontaneous neuronal activity

産総研先端フォトバイオ<sup>1</sup>, 阪大院生命機能<sup>2</sup>, 阪市大院理<sup>3</sup>, 産総研バイオメディカル<sup>4</sup> ○(PC)箕嶋 渉<sup>1,2</sup>, 増井 恭子<sup>1,2</sup>, 細川 千絵<sup>1,3</sup>, 谷 知己<sup>4</sup>, 石飛 秀和<sup>1,2</sup>, 井上 康志<sup>1,2</sup>

PhotoBIO-OIL, AIST<sup>1</sup>, FBS Osaka Univ.<sup>2</sup>, Osaka City Univ.<sup>3</sup>, Biomedical institute, AIST<sup>4</sup>

○(PC)Wataru Minoshima<sup>1,2</sup>, Kyoko Masui<sup>1,2</sup>, Chie Hosokawa<sup>1,3</sup>, Tomomi Tani<sup>4</sup>, Hidekazu Ishitobi<sup>1,2</sup>, Yasushi Inouye<sup>1,2</sup>

E-mail: w.minoshima@aist.go.jp

多数の神経細胞により構成された神経回路においてグルタミン酸 (Glu) は、主要な興奮性神経伝達物質であることが知られている。培養系を用いた実験において、微小電極アレイに培養された神経回路において細胞外 Glu 濃度に依存した神経活動頻度の増加が報告されており[1]、神経回路内でのグルタミン酸濃度を定量評価する手法開発が求められている。水素分子を重水素分子に置換した化合物を利用した代謝動態解析などが行われており[2]、神経回路においても重水素置換された Glu (GluD) を用いたイメージングが有効であると考えられるが、神経回路内での GluD の生理的作用は明らかではない。そこで本研究では、培養神経回路の細胞外 Glu および GluD 濃度に依存した神経自発活動の変化を解析した。

妊娠 18 日目の Wistar ラット胎児の海馬組織から酵素処理とピペッティングで単離した細胞を、64 個の微小電極を集積した電極アレイ (MED プローブ、アルファメドサイエンティフィック) に培養した。細胞外 Glu、GluD 濃度を各々 0、10、20、30  $\mu\text{M}$  に調整して細胞外電位をそれぞれ 10 分間計測し、計測された細胞外電位データからノイズの 8 倍を超えるピークを自発スパイクとして検出した。

MED プローブで 22-37 日培養した神経回路における細胞外グルタミン酸濃度に依存した自発スパイク頻度を解析した結果を Fig.1 に示す。自発スパイク頻度は細胞外 Glu あるいは GluD 濃度に依存して増加し、自発スパイク増加率は Glu および GluD 間で有意差が認められなかった。また、Glu および GluD 濃度に依存した自発スパイク頻度増加は、グルタミン酸受容体に特異的な阻害剤により抑制された。これらの結果から、培養神経回路において GluD が Glu と同様の生理作用を持つことが明らかとなった。

【参考文献】 [1] Han et al., *Med. Eng. Phys.*, (2019)

[2] Miyashita et al., *Science*, (2004)

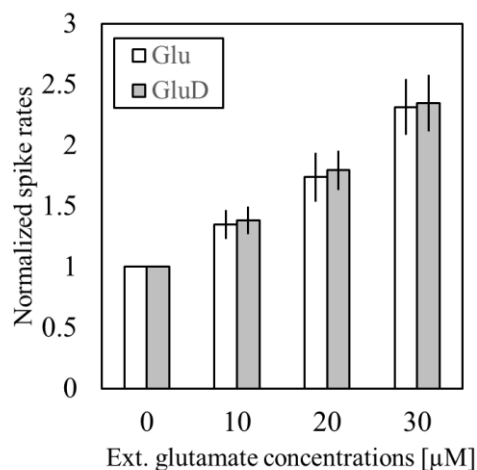


Fig.1 Relationship between spike rates and extracellular glutamate concentrations.