

集光フェムト秒レーザーによる単一神経細胞での神経電気活動誘発

Focused Femtosecond Laser-induced Single Neuronal Electrical Activity

阪市大院理 ○(M2) 瀬川 夕海, 箕嶋 渉, 増井 恭子, 細川 千絵

Osaka City Univ., °Yumi Segawa, Wataru Minoshima, Kyoko Masui, Chie Hosokawa

E-mail: m20sb018@vh.osaka-cu.ac.jp

ヒト脳内には約 1000 億個の神経細胞が存在し、シナプス結合により複雑な神経回路網を形成している。記憶や学習といった脳機能に深く関わりとされる神経細胞同士の結合特性やシナプス伝達強度は、神経細胞への外部刺激により変化することが知られている [1]。従来の外部刺激手法として、電気刺激手法や薬理学的手法、さらには光遺伝学的手法が挙げられるが、空間精度の低さや組織に対する侵襲性、不可逆的な遺伝子導入操作が問題となる。本研究では、高空間分解能かつ非接触、非侵襲の細胞操作が可能な集光フェムト秒レーザーを用いて神経活動を誘発する手法の開発を進めている。これまでに、多電極アレイ上の培養神経回路網においてレーザー照射に伴い高頻度の細胞外電位スパイクが持続、空間伝搬することを明らかにしてきたが [2]、計測した神経活動の発生源となる細胞を特定することは困難であった。そこで今回、単一細胞の神経活動を計測できるパッチクランプ電位計測システムを蛍光顕微鏡に組み込み、レーザー照射に伴う単一細胞の神経活動変化を評価した。

フェムト秒チタンサファイアレーザー (パルス幅：~100 fs, 中心波長：800 nm, 繰り返し周波数：82 MHz) を正立型蛍光顕微鏡に導入し、60 倍の水浸対物レンズでラット海馬由来の培養神経細胞に集光した。レーザー照射に伴う細胞内 Ca^{2+} 濃度変化を可視化するため、蛍光カルシウム指示薬 Oregon Green 488 BAPTA-1 AM (OGB-1) を神経細胞に負荷し、パッチクランプ法を用いた細胞膜電位計測により神経活動変化を計測した。OGB-1 を負荷した培養 20 日目の神経細胞にフェムト秒レーザー (レーザー光強度：30 mW, レーザー照射時間：8 ms) を照射したところ、レーザー照射直後より細胞体において蛍光強度が急激に増加し、細胞内への Ca^{2+} 流入が確認された (Fig. 1(a)). 同時に照射した細胞において高頻度の膜電位スパイクが観察された (Fig. 1(b)). この結果は、レーザー照射した細胞において神経活動が誘発されたことを示し、集光フェムト秒レーザー照射が単一細胞の神経電気活動を誘発する刺激手法として有効であることを示唆している。

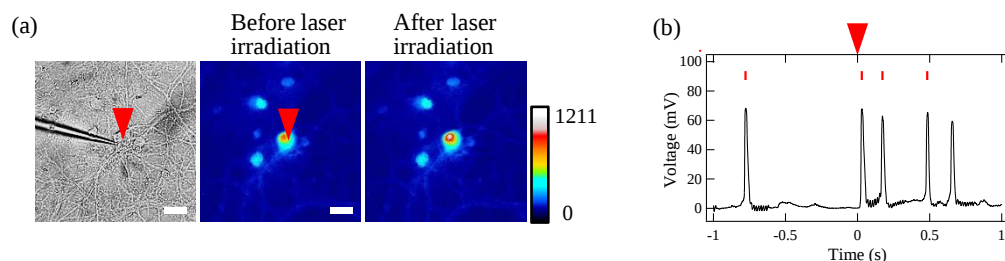


Fig. 1 (a) Transparent image (left) and fluorescence images (right), and (b) membrane potential changes of neurons (20 DIV) before and 2.64 ms after the laser irradiation. Red arrows indicate the laser focus and the time point of laser irradiation. Red bars indicate the time points of membrane potential spikes. The scale bar is 20 μm .

[1] H. Park, K. Friston, *Science*, 342, 1-8 (2013).

[2] 瀬川夕海 他, 第 68 回応用物理学会春季学術講演会, 18p-Z21-5 (2021).