

多電極アレイ上で培養した神経細胞内シナプス小胞群の光捕捉

Optical Trapping and Assembling Process of Synaptic Vesicles in Neurons Cultured on Multi-Electrode Arrays

阪市大院理[○](M1)安田 健人, 箕嶋 渉, 増井 恭子, 細川 千絵

Osaka City Univ., [○]Taketo Yasuda, Wataru Minoshima, Kyoko Masui, Chie Hosokawa

E-mail: m21sb033@uv.osaka-cu.ac.jp

神経細胞間のシナプス伝達過程では、シナプス前細胞の脱分極に伴ってシナプス小胞内の神経伝達物質が開口放出され、シナプス後細胞表面の受容体と結合して情報伝達が行われる。この一連の神経伝達過程においてシナプス小胞は細胞間の情報伝達を担い、重要な役割を持つ。光ピンセットによる神経細胞内シナプス小胞群の捕捉、集合が報告されており [1], シナプス伝達過程の可逆的制御の実現が期待されるが、細胞内シナプス小胞の光捕捉に伴う神経電気活動変化は依然として不明である。そこで本研究では、神経細胞内シナプス小胞群の光捕捉過程における神経活動を評価するため、レーザー集光領域でのシナプス小胞群の光捕捉、集合過程の蛍光解析を行い、光捕捉に伴う神経活動変化について検証した。

波長 1064 nm の Nd:YVO₄ レーザーを正立型蛍光顕微鏡に導入し、60 倍水浸対物レンズ (NA 1.0) を用いて、ガラスボトムディッシュ上に培養したラット海馬由来神経細胞のシナプス部位に集光した。蛍光色素 FM1-43 により細胞内シナプス小胞を染色し、レーザー集光領域内での二光子励起蛍光強度の時間変化を sCMOS カメラで取得した。シナプス小胞の局在を示す輝点にレーザーを集光したところ、レーザー光強度 100 mW では蛍光褪色に伴い二光子励起蛍光強度が減少し続けたが、600 mW では褪色したのちに再度蛍光強度が増加する傾向が見られた (Fig. 1)。この結果は、細胞内シナプス小胞が捕捉、集合する様子を示しており、レーザー光強度、すなわち光圧の大きさに依存して捕捉された小胞数の増加が示唆される。発表では、多電極アレイ上に培養したシナプス小胞群の光捕捉過程の蛍光解析、および光捕捉下での神経活動測定に関して議論する。

[1] C. Hosokawa et al., *Appl. Phys. Lett.*, 98, 163705-1-3 (2011).

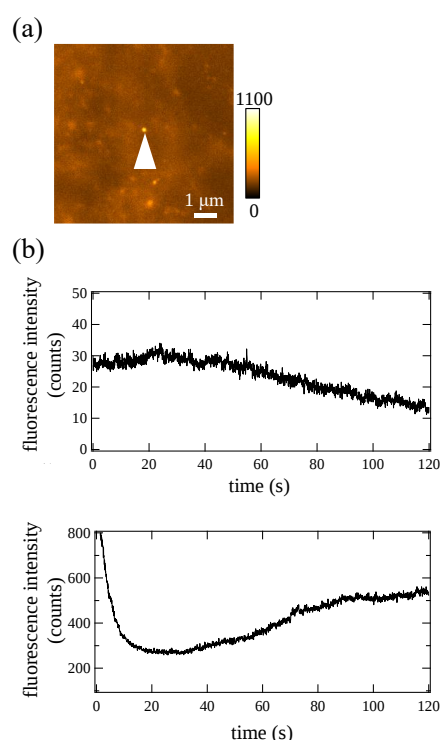


Fig. 1 (a) Fluorescence image of synaptic vesicles labeled with FM1-43 in neurons (23 DIV). White arrows indicate the laser focus. (b) Time trends of two-photon excitation fluorescence intensity of the synaptic vesicles at the laser power of 100 mW (upper) and 600 mW (lower), respectively.