薄膜型マイクロ流体デバイスを用いた神経細胞モジュール間の結合指向性制御

Microfluidic films for controlling oriented connectivity between neuronal modules

東北大工 [1]　東北大通研 [2]　東北大院工 [3]　東北大院医工 [4]　°(B)門間 信明 [1,2], 山本 英明 [1-3],
竹室 汰貴 [2,4], 守谷 哲 [2], 藤本 ありさ [2,3], 本田 渉 [1], 平野 愛弓 [1-4], 佐藤 茂雄 [1-3]
Sch. Eng.[1], RIEC[2], Grad. Sch. Eng.[3], Grad. Sch. Biomed. Eng.[4] Tohoku Univ.　°N. Monma[1,2],
H. Yamamoto[1-3], T. Takemuro[2,4], S. Moriya[2], A. Fujimoto[2,3], W. Honda[1], A. Hirano-Iwata[1-4], S. Sato[1-3]
E-mail: nobuaki.monma.r1@dc.tohoku.ac.jp

【背景・目的】神経細胞間の結合構造と発現する機能の関係を調べるためのモデル系として，生体脳よりも制御性が高く計測が容易な分散培養系が注目されている．これまでに，マイクロ加工基板[1]や薄膜型マイクロ流体デバイス[2]を用いた細胞パターニングにより，生物の脳神経回路を特徴付けるモジュール構造をシャーレ内で再現し，ネットワークのモジュール性が神経発火パターンに及ぼす影響を調べてきた．しかし，これまでの実験ではモジュール間の結合が双方向的であり，モジュール間の結合指向性を制御することはできなかった．そこで本研究では，モジュール間を接続するマイクロチャネルにテーパー構造[3]を持たせることで，「モジュール構造」と「結合指向性」という 2 つの特徴を両立させた培養系神経回路を構築し，発現した神経活動の複雑性に対する影響を調べたので，その結果を報告する．

【実験方法】2 層の SU-8 をパターニングした鋳型モールド上でポリジメチルシロキサンを硬化させることで薄膜型マイクロ流体デバイスを作製し[図 1(a)]，これを張り付けたガラス基板上でラット大脳皮質神経細胞を培養した．先行研究[2]では幅 2～10 μm の直線状に形成していたマイクロチャネルを，端が 2 μm（短辺）と 10 μm（長辺）のテーパー型にすることで，モジュール間の結合指向性の制御を試みた．神経突起の成長を培養 1～2 日目に位相差顕微鏡にて観察することで，整流確率（長辺側から短辺側に伸長した神経突起の割合）を評価した．さらに，培養 10 日目において蛍光 Ca イメージングにより神経回路の自発活動パターンを計測した．

【結果・考察】テーパー型マイクロチャネルの整流確率を評価したところ，64%（$n = 50$ 本）の突起が順方向に貫通しており，さらにテーパー構造を 4 段に増やしたマイクロチャネル[図 1(b)]では整流確率は 84%（$n = 32$ 本）に上がった．4 段のテーパー構造を有するモジュール構造型培養神経回路を構成し[図 1(c)-(d)]，その自発活動を計測したところ，ネットワーク全域での全体同期と右半分のみが発火する部分同期が共存する複雑な神経活動が発現した（図 2）．全体同期と部分同期が混在した発火パターンは，直線型チャネルのみを有するモジュール構造型培養神経回路でも観察されるが[1,2]，テーパー型チャネルを用いることで意図した箇所に対し人工的に部分同期を埋め込むことが可能になり，神経細胞ネットワーク上の構造機能相関をより精緻に調べることが可能になった．発表当日は，指向性結合の有無による神経活動複雑性を解析・比較した結果についても報告する．

参考文献：
[1] H. Yamamoto *et al.*, *Sci. Adv.* 4, eaau4914 (2018). [2] T. Takemuro *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.* 59, 117001 (2020). [3] J.-M. Peyrin *et al.*, *Lab Chip* 11, 3663-3673 (2011).

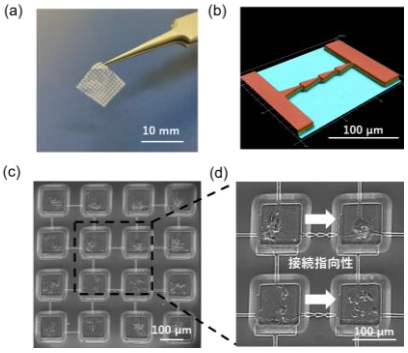

図 1: (a)薄膜型マイクロ流体デバイス．(b)テーパー型 4 段チャネル．(c)結合指向性を持つモジュール構造型培養神経回路．(d)拡大図．

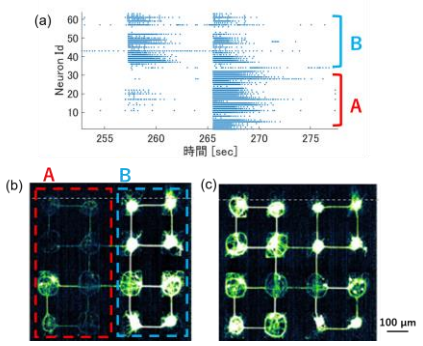

図 2:構築した培養神経回路の自発活動計測．(a)ラスタープロット．(b)部分同期(257 sec)と(c)全体同期(266 sec)のスナップショット

© 2022年 応用物理学会