

高密度多点電極アレイを用いたモジュール構造型培養神経細胞回路の構造機能相関の解析

Analysis of structure-function relationship of modular neuronal networks using high-density multi-electrode arrays

東北大通研¹, 東北大院医工², 大分大理工³, 早大理工⁴, 東北大 AIMR⁵

○佐藤有弥^{1,2}, 山本英明¹, 加藤秀行³, 谷井孝至⁴, 佐藤茂雄¹, 平野愛弓^{1,2,5}

RIEC, Tohoku Univ.¹, Grad. Sch. Biomed. Eng., Tohoku Univ.²,

Fac. Sci. & Tech., Oita Univ.³, Fac. Sci. & Eng., Waseda Univ.⁴, and AIMR, Tohoku Univ.⁵

○Y. Sato^{1,2}, H. Yamamoto¹, H. Kato³, T. Tanii⁴, S. Sato¹, A. Hirano-Iwata^{1,2,5}

E-mail: yuya.sato.q4@dc.tohoku.ac.jp

【背景・目的】多点電極アレイ(MEA)を用いた神経細胞の活動計測は、計測の非侵襲性と高時間分解能を有する点において非常に優れており、培養神経回路だけでなく生体脳における計測データも収集されている。さらに近年、CMOS プロセス技術を用いて作製された高密度 MEA が登場したことで、MEA における空間分解能の課題が解決され、培養神経回路の活動を単一細胞レベルで計測することが可能となった[1]。私たちは高密度 MEA 上に生体神経回路で見られるモジュール構造を有する神経細胞回路[2,3]を培養系で再構成し、その活動を高い時間分解能を用いて計測可能な手法を確立した。今回さらに、パターンニングした人工神経細胞回路の自発活動についてより詳細な解析をしたので、その結果を報告する[4]。

【実験方法】実験に用いた高密度多点電極アレイは Maxwell Biosystems 社の MaxOne MEA で、サンプリングレート 20 kHz で計測を行った。計測電極領域の表面をコラーゲンゲルと poly-D-lysine でコーティングした後、PDMS を用いて作製した薄膜型マイクロ流路[3]を張り付けることで、神経細胞の接着可能領域を制御した。マイクロ流路のパターン形状は $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ の正方形 4 つを直線でつないだモジュール構造パターンと、 $400 \times 400 \mu\text{m}^2$ の正方形 1 つからなるモジュール構造なしパターンを使用した。ここに、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 10~14 日目に構成された回路の自発活動を計測した。

【結果と考察】モジュール構造パターンの自発活動は、各モジュールの独立した部分同期発火とネットワーク全体に及ぶ全体同期発火が混在しており、蛍光 Ca イメージングの結果と一致する傾向であった。また、任意の 1 電極の活動との相互相関をプロットしたところ、ランダムネットワークではほぼすべての電極で時間差なくピークが表れているのに対して、モジュールネットワークでは選択した電極と同一モジュール内、隣接したモジュール間、隣接しないモジュール間で、ピークの生じ方に違いがあることが分かった。隣接したモジュールのピークは ± 0.01 s の時間範囲に現れていることから、MEA による高時間分解計測によって明らかになったものである。発表では、同期発火における活動の時間的遅延やバースト発火についての解析結果もあわせて紹介する。

本研究は、文部科学省学術変革領域研究 (B) 「脳神経マルチセルラバイオコンピューティング」、日本学術振興会科研費、JST さきがけ、JST-CREST、東北大学電気通信研究所共同プロジェクト研究の助成を受けて実施された。

[1] Obien et al., *Front. Neurosci.* 8, 423 (2015). [2] Yamamoto et al., *Sci. Adv.* 4, eaau4914 (2018). [3] Takemuro et al., *Jpn. J. Appl. Phys.* 59, 117001 (2020). [4] Sato et al., *Front. Neurosci.* 16:943310 (2023).

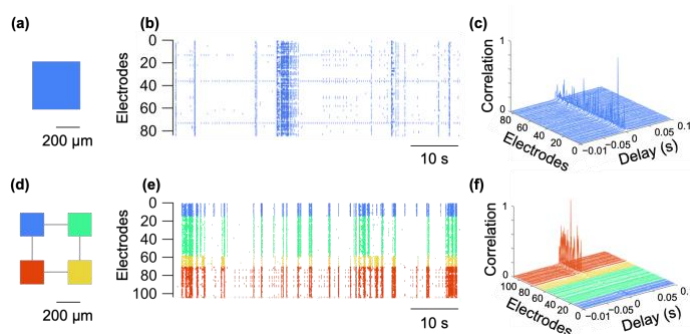


Fig. 1: Random (a) and modular (d) structures of micropatterned neuronal networks. The raster plot of random network (b) and modular network (e). Cross correlation of random network (c) and modular network (f).