

集光フェムト秒レーザーの高頻度照射により誘発された神経活動の評価

Neuronal Activities Induced by High Frequency Irradiation of a Focused Femtosecond Laser

阪公大院理¹, 情通研未来 ICT² ○大谷 莞¹, 瀬川 夕海¹, 箕嶋 渉², 増井 恭子¹, 細川 千絵¹
Osaka Metropolitan Univ.¹, NICT² ○Kan Otani¹, Yumi Segawa¹, Wataru Minoshima², Kyoko Masui¹,
Chie Hosokawa¹

E-mail: sg22279d@st.omu.ac.jp

神経細胞間の情報伝達は外部刺激により持続的に変化することが知られている。10～100 Hz 程度の高頻度電気刺激を神経細胞に印加することによりシナプス伝達強度が持続的に増強する長期増強現象が引き起こされる [1]。我々はこれまでに、神経細胞表面に集光フェムト秒レーザーを照射すると、レーザー照射に伴う多光子吸収に基づいて細胞膜に一過性の微小穿孔が形成され、細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇し、神経活動が誘発されることを報告した [2]。本研究では、集光フェムト秒レーザーを用いて長期増強を誘発することを目的として、フェムト秒レーザーの高頻度照射に伴う神経活動の誘発応答について評価した。

試料としてラット海馬由来培養神経細胞を用いた。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) を試料に負荷した。フェムト秒チタンサファイアレーザー (中心波長 800 nm, パルス幅 ~100 fs, 繰り返し周波数 82 MHz) を正立型蛍光顕微鏡に導入し、60 倍水浸対物レンズ (N.A. 1.0) を用いて試料に集光した。単一神経細胞にレーザー光強度 50 mW, 照射時間 1.6 ms, 照射周波数 45 Hz の条件で 1 秒間レーザーを照射したところ、照射された細胞体において OGB-1 の蛍光強度が急激に増加し、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が確認された (Fig. 1)。隣接した細胞においても細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇がみられ、フェムト秒レーザーの高頻度照射により神経活動が誘発された。以上より、集光フェムト秒レーザーの高頻度照射が神経細胞の刺激手法として有効であることが示された。発表では、フェムト秒レーザーの高頻度照射に伴う誘発応答を細胞外電位計測により評価した結果についても報告する。

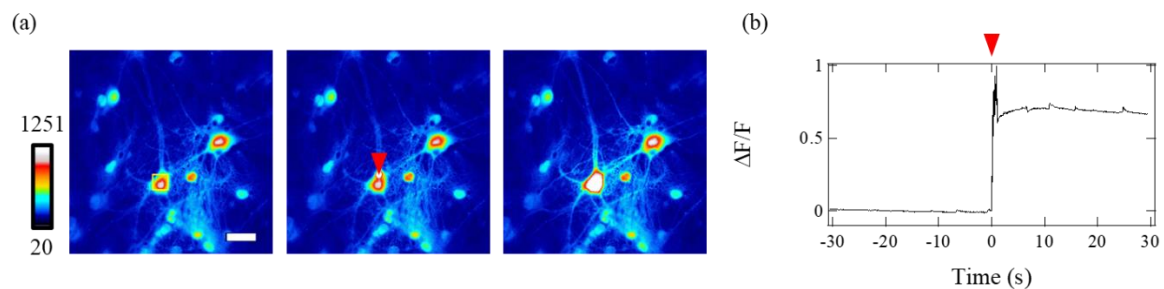


Fig. 1 (a) Fluorescence images of neurons (22 days *in vitro*) before (left), immediately after (middle), and 1.3 s after (right) femtosecond laser irradiation. (b) Time course of normalized fluorescence intensity in the target cell region (15 $\mu\text{m} \times 15 \mu\text{m}$). The scale bar in the fluorescence image is 20 μm . The red arrows indicate the laser focus and the timing of laser irradiation.

[1] T.V.P. Bliss et al., *Neuroforum*, 24, A103-A120 (2018).

[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).