

課題番号 : F-15-HK-0084  
利用形態 : 機器利用  
利用課題名(日本語) : 概日時計を創る : 1 細胞計測と操作による細胞ネットワークの再構築  
Program Title(English) : Reconstructing mammalian circadian clocks on a chip.  
利用者名(日本語) : 榎木亮介, 平田快洋  
Username (English) : R. Enoki, Y. Hirata  
所属名(日本語) : 北海道大学 大学院医学研究科  
Affiliation (English) : Graduate School of Medicine, Hokkaido University

## 1. 概要(Summary)

哺乳類における生物時計の中核は、視床下部視交叉上核に存在する。この視交叉上核には両側で約2万個の神経細胞とそれを取り囲むグリア細胞が存在し、それらが部位特異的な領域振動体を形成し、約24時間の正確で強靱な概日リズムを全身へ投射することで行動リズムや生理機能に重要な役割を担う。しかしながら、分散培養条件では不安定でばらついた周期をもつ個々の細胞が、如何に組織として安定したリズムを獲得していくのか、そのメカニズムについては未だに不明な点が多く残る。本研究では、中枢時計を1細胞から再構築できるマイクロパターン基板の作成を試み、中枢時計のメカニズムとその安定化機構について構成的に理解することを目指した。

## 2. 実験(Experimental)

### 【利用した主な装置】

スピンドーター、両面マスクアライナー(MA-6, ズース)、  
反応性イオンエッチング装置 (RIE-10NR、サムコ)

### 【実験方法】

MPC ポリマーとパリレンの皮膜が形成されたガラス基板を微細加工技術により加工し、直径40~200 $\mu$ mのサイズの異なる微小チャンバーが多数配置された培養皿を作製した。その培養皿を用いて、PER2::LUCマウスから大脳皮質由来のアストロサイトを採取・培養し、発光による長期イメージングを行なった。

## 3. 結果と考察(Results and Discussion)

アストロサイトにおいて単一細胞レベルの概日リズムを確認した。また、1細胞から十数細胞をマイクロパターン上に独立に培養し、細胞数の異なるパターンから同時に長期発光計測を行うことができた。

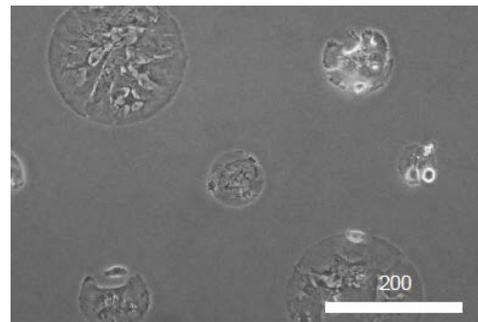


Fig. 1 Cells on the micropatterned glass plate.

## 4. その他・特記事項(Others)

共同研究者: 繁富香織 (北海道大学 情報科学研究科、  
学術研究員)

## 5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

1. 平田快洋, 視交叉上核単一ニューロンの概日特性とリズム安定化機構の解明, 脳神経機能学のフロンティア, 東京薬科大学, 2016.3.12 (口頭発表)
2. 平田快洋, 視交叉上核単一ニューロンの概日特性とリズム安定化機構の解明, 第1回北海道ナノバイオ研究会(HNB)シンポジウム, 北海道大学, 2015.8.18 (口頭発表)
3. 榎木亮介, 概日リズム中枢神経ネットワークの多機能イメージング解析, 時間医学講座開講10周年記念シンポジウム, 北海道大学, 2016.3.19 (口頭発表)
4. 榎木亮介, 概日リズム中枢細胞ネットワークの多機能イメージング解析, 脳神経機能学のフロンティア, 東京薬科大学, 2016.3.12 (招待講演)

Yoshihiro Hirata, Ryosuke Enoki, Kaori Kuribayashi-Shigetomi, Yoshiaki Oda, Sato Honma & Ken-ichi Honma

“Circadian rhythms in Per1, PER2 and Ca<sup>2+</sup> of a solitary SCN neuron cultured on a microisland”, Scientific Reports volume 9, Article number: 18271 (2019)

## 6. 関連特許(Patent)

なし