

課題番号 : F-15-WS-0072
 利用形態 : 機器利用
 利用課題名(日本語) : マイクロパターン上での培養による興奮性-抑制性神経細胞の非標識判別
 Program Title (English) : Live-cell, label-free identification of excitatory-inhibitory cell types of neurons using micropatterns
 利用者名(日本語) : 河野 翔¹⁾
 Username (English) : Sho Kono ¹⁾
 所属名(日本語) : 1) 早稲田大学理工学術院 基幹理工学部 電子物理システム学科
 Affiliation (English) : 1) Department of electronic and physical systems, Waseda University

1. 概要(Summary)

哺乳類の脳皮質の神経細胞は後シナプス細胞への作用が異なる2種の細胞、すなわち興奮性神経細胞と抑制性神経細胞からなる。この細胞種判別のために、私たちは、分散培養系において抑制性細胞の軸索形成が興奮性細胞のそれに比べて遅いという報告に着目した。さらに、複数の神経突起の中の1本だけが長く伸長できるようにした非対称マイクロパターン上で単一神経細胞を培養すると、その長く伸長した1本の突起が軸索に分化することを見出した。今回、パターンなしで培養した細胞と非対称パターン上で培養した細胞との軸索伸長過程を比較することにより、非対称マイクロパターンを用いる有効性を検証したので、その結果を報告する。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

環境維持・制御装置(東横化学製)

【実験方法】

基板上に胎生18日目のラット脳皮質細胞を播種し、培養2~7日目までの軸索長を計測した。さらに、7日目に免疫蛍光染色を施して細胞種を判定し、軸索伸長速度と細胞種との関係を調べた。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

非対称マイクロパターン上で細胞を培養すると(図1)、抑制性神経細胞の軸索形成が興奮性神経細胞のそれに比べて遅くなり(図2a)、興奮性-抑制性細胞を判別できる。サンプル細胞数を90に増やして統計的解析を行ったところ、培養6日目の軸索長さの値を110 μm とすることにより98%の確率で興奮性-抑制性判別が可能であることが分かった。

一方、パターンなしのガラス表面でも抑制性細胞の軸索形成が興奮性細胞のそれよりも遅くなる傾向をもつことを確認した(図2b)。パターン上では、軸索伸長方向と本数

が規定されるため、軸索形成のタイミングが揃えられ、これにより興奮性-抑制性の軸索伸長速度に明確な差が生じたと考えられる。

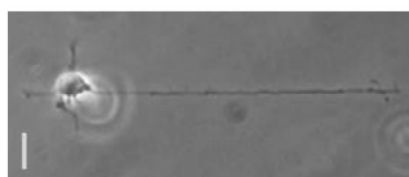


Fig.1 Cultivated neuron on a micropattern. Scale bar:20 μm .

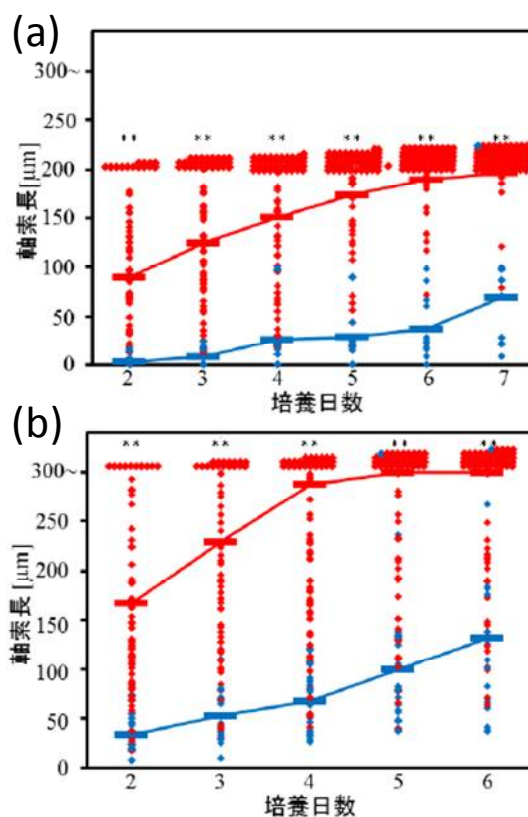


Fig.2 Distribution of axon length for some incubation period. (a)Neurons on asymmetric patterns and (b) those on glass surfaces without patterns. Red: excitatory neurons and Blue: inhibitory neurons.

4. その他・特記事項 (Others)

本研究は科研費・特別研究員奨励費ならびに科研費・基盤研究(C)(20339708)の助成を受けて実施されている。

5. 論文・学会発表 (Publication/Presentation)

なし。

6. 関連特許 (Patent)

なし。