

課題番号 : F-16-HK-0026
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : マイクロパターン基板の作成
Program Title(English) : Fabrication of micro-patterned substrates
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グリア細胞が存在し、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するのか、そのメカニズムは未だに不明である。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】

スピコーター、両面マスクアライナー(MA6, 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 (2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン) 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 100 μm の微小チャンバーが多数配置された培養皿を作成した。その培養皿を用いて、視交叉上核から摘出した神経細胞を分散培養した。その後、神経細胞特異的に蛍光プローブを導入することで蛍光イメージングを行なった。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

微小チャンバー内に視交叉上核由来の単一神経細胞が培養できることを確認した。また、単一神経細胞のみならず、単一神経細胞と複数のグリア細胞が共存しているパターンが存在していた。これらの細胞より蛍光イメージングを行ったところ、数日間に渡り、安

定的に蛍光イメージングが可能であることが明らかとなった。

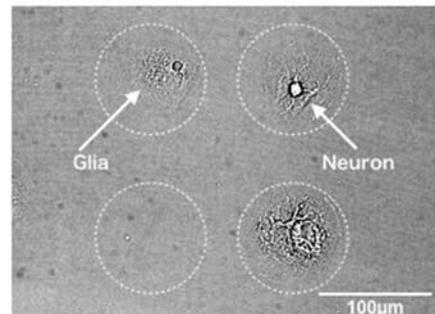


Fig. 1 Neuron and glia on the micropatterned glass plate.

4. その他・特記事項(Others)

共同研究者: 繁富香織 (北海道大学 高等教育推進機構、特任准教授)

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

1. 平田快洋, Fluorescent calcium imaging of suprachiasmatic nucleus of a single neuron on the micropattern-culture dish, 日本機械学会第27回バイオフロンティア講演会, 北海道大学, 2016.10.22 (口頭発表)
2. 平田快洋, Optical imaging of a single suprachiasmatic neuron using microisland culture method, Sapporo Symposium, 北海道大学, 2016.11.11 (口頭発表)
3. 榎木亮介, 視交叉上核ネットワークで同期した概日膜電位リズム, 第23回時間生物学会, 名古屋大学, 2016.11.12-13. (ポスター発表)
4. 榎木亮介, Optical Detection of Circadian Voltage Rhythms in the Suprachiasmatic Nucleus 「概日時計システムの脳内機構」, 第94回日本生理学会大会, 浜松アクトシティコンgresセンター, 2017.3.28-30 (口頭発表)
5. Enoki R, et al., Dual origins of the intracellular circadian calcium rhythm in the suprachiasmatic nucleus. Scientific Reports, 2017, 7:41733. doi: 10.1038/srep41733.
6. Enoki R, et al., Synchronous circadian voltage rhythms with asynchronous calcium rhythms in the suprachiasmatic nucleus. PNAS, 2017, doi: 10.1073/pnas.1616815114

6. 関連特許(Patent) なし