

課題番号 : F-17-KT-0032
利用形態 : 技術代行
利用課題名(日本語) : ニューロン軸索ガイダンスにおける脳組織の物理的環境の作用機序
Program Title(English) : In vitro analysis of neuronal axon guidance by mechanical cues
利用者名(日本語) : 見学美根子, 亀井謙一郎
Username(English) : M Kengaku, K Kamei
所属名(日本語) : 京都大学物質-細胞統合システム拠点
Affiliation(English) : KUIAS-iCeMS, Kyoto University
キーワード/Keyword : ニューロン、構造的性質、ナノパターン培養基質、大面積超高速電子ビーム描画装置

1. 概要(Summary)

脳発生過程で、ニューロンの軸索がシナプス結合する標的細胞に向かって伸長する過程で、脳組織の構造的性質(間隙、硬さ、形態)が影響すると考えられる。様々なナノパターン加工した培養基質上でニューロンの軸索伸長に及ぼす影響を解析し、組織内の物理的刺激による軸索ガイダンス機構を明らかにする。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

大面積超高速電子ビーム描画装置 A15
深掘りドライエッチング装置 B08
ウェハスピンド洗浄装置 A11
ドライエッチング装置 B10

【実験方法】

ナノハブ井上先生、瀬戸先生の支援で幅 150~4000 nm, 深さ 400 nm の line & space パターンを描画し、シリコンの深掘エッチングを行っていただいた(Fig. 1)。

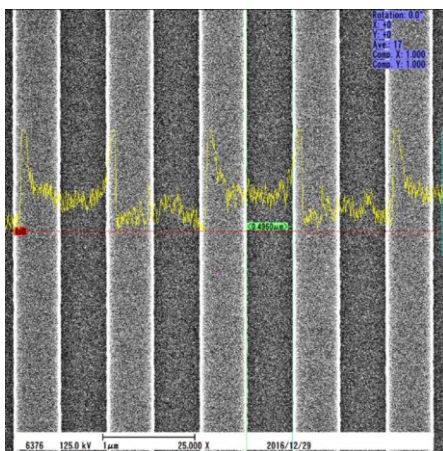


Fig. 1 A line & space pattern with linewidth of 500 nm.

上記ナノハブで作成したシリコン盤を鋳型として転写し

た Ni スタンパーから作成した COP 素材の培養皿を業者に特注した。この培養皿でマウス脳ニューロンの初代培養を行ない、外環境の物理的形狀が軸索走行に与える影響を解析した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

海馬ニューロンと小脳顆粒細胞を用いて基質の形状が軸索走行に与える影響を観察したところ、溝のピッチにより平行から直角へ遷移することが示された。また平行と直角の転換が起こる溝幅は、ニューロン種により異なることが明らかになった。さらにニューロン前駆細胞の分裂軸が組織の形状に影響を受けるかを解析したところ、分裂軸は溝のあるなしで左右されなかった。

これらの結果に基づき、軸索先端の成長円錐における基質との接着が細胞骨格の走行パターンに影響して発生する力ベクターを規定するという仮説を立て、現在細胞生物学的な解析を行なっている。

4. その他・特記事項(Others)

- ・挑戦的萌芽研究「機械的刺激による軸索ガイダンスの分子・力学基盤」
- ・COP 培養皿作成:株式会社 精工技研

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

なし。

6. 関連特許(Patent)

なし。