

課題番号 : F-17-NU-0023
 利用形態 : 機械利用
 利用課題名(日本語) : 神経細胞ネットワークハイスループットスクリーニング装置の開発
 Program Title(English) : Development of neuron network high throughput screening device
 利用者名(日本語) : 王志宏, 宇野秀隆, 栗田裕子, 宇理須恒雄
 Username(English) : Z. Wang, H. Uno, Y. Kurita, T. Urisu
 所属名(日本語) : 名古屋大学未来社会創造機構
 Affiliation (English) : Institutes of Innovation for Future Society, Nagoya University
 キーワード/Keyword : リソグラフィ・露光・描画装置、膜加工・エッチング、 Incubation type planar patch clamp

1. 概要(Summary)

ボッシュプロセスを用いた SOI ウェーハの微細加工にリソグラフィ装置やエッチング装置を利用しています。培養型プラナーパッチクランプバイオチップを製作し、これを用いたハイスループットスクリーニングデバイスを開発中です。チップ構成の 1 つのセグメントが Fig.1 のように示されています。周りの柵は神経細胞を培養中に微細貫通穴の上に固定するための構造です。昨年末、神経細胞ネットワークのイオンチャンネル電流の測定に成功しました。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】 ICP エッチング装置一式, 両面露光用マスクアライナ, ダイシングソー装置

【実験方法】

(1)微細貫通穴形成: レジストパターンは分子研ナノプラットのマスクレス露光機で形成し、名大ナノプラットの ICP エッチング装置一式でエッチング。

(2)セルケージ構造形成: 分子研ナノプラットのマスクレス露光機でレジストパターン形成し、名大ナノプラットの ICP エッチング装置一式でエッチング。

(3)ピペット溶液溜め構造形成: 名大ナノプラットの両面露光用マスクアライナでセルケージと微細貫通穴のパターンに位置合わせをして、裏面の溶液溜め加工のためのレジストパターンを形成。その後ボッシュプロセスで深穴形成。

(4) ダイシングソー装置を利用し、最後のプレナーパッチクランプチップを正確にカットする。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

Fig.1 のプレナーパッチクランプチップを製作しました。この基板を利用し、ラットの海馬神経細胞の初代培養を長時間で成功しました。3週間後、チャンネル電流の測定を完成しました(Fig.2)。

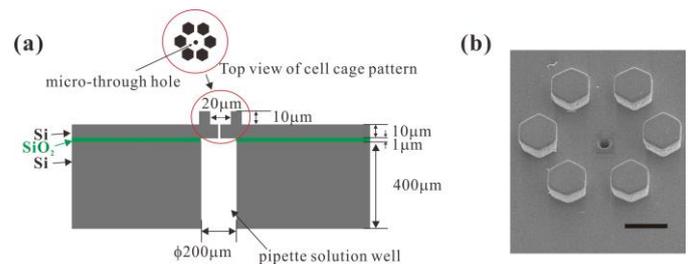


Fig. 1. (a) Schematic cross section image of the planar patchclamp chip fabricated by Bosch process. (b) SEM image of the chip surface with micro-through hole and cage structure.

Incident angle is 15 degrees. Scale bar is 10 μm.

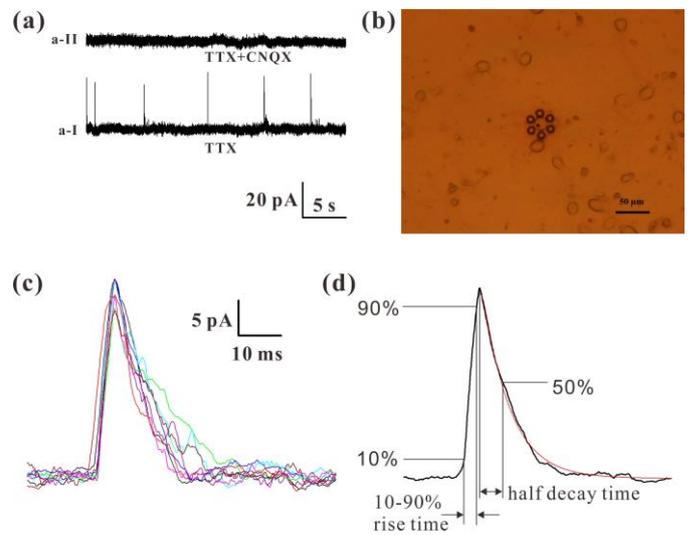


Fig. 2. (a) Observed spontaneous channel current recordings. (a-I) TTX (Tetrodotoxin) (1 μM) is added to the bath solution, and the membrane potential (V_m) is 12.6 mV. (a-II) TTX (1 μM) + CNQX (6-Cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione) (25 μM) is added to the bath solution, and the V_m is 16.0 mV. (b) Bright field image of neuron after 24 days culture observed before channel current measurement (a). Scale bar is 50 μm. (c) Eight examples of overlaid channel current waveforms of (a-I). (d) Average channel current waveforms in (c). Single exponential fit is overlaid. The 10-90% rise time is 3.6 ms, and the half decay time is 6.2 ms.

4. その他・特記事項 (Others)

・謝辞: エッチング装置の利用について、ご指導、御協力くださいました、新井研究室、中原康様、福澤研究室東直輝様に感謝いたします。

・競争的資金名: CREST「培養型プレーナーパッチクランプ」

・他の大学との共同研究: 北陸先端科学技術大学院大学、高村禪教授。名古屋大学大学院医学系研究科、石垣診祐助教。自然科学研究機構分子科学研究所、高田紀子、近藤聖彦技術課職員 (S-17-MS-0011、S-17-MS-1008)。

5. 論文・学会発表 (Publication/Presentation)

(1) 王志宏、宇野秀隆、栗田裕子、中尾聡、熊澤正幸、高村禪、宇理須恒雄「単一細胞解析用抽出基板における微細貫通孔の微細構造制御」 ナノ学会第15回大会、5月10-12日、札幌、北海道

(2) 王志宏、宇野秀隆、栗田裕子、高田紀子、中尾聡、上田正、浮田芳昭、高村禪、中山章弘、宇理須恒雄「培養型プレーナーパッチクランプの製作と自発的シナプス電流測定への応用」応用物理学会春季学術講演会、2018年3月17日～2018年3月20日、東京、日本

6. 関連特許 (Patent)

なし。