

課題番号 : F-19-UT-0041
 利用形態 : 機器利用
 利用課題名(日本語) : マイクロ加工技術を利用した神経・心筋細胞の機能評価
 Program Title (English) : Functional evaluation of neural and cardiac cells with microfabricated devices
 利用者名(日本語) : 森谷文香, 張智翔, 岡本美優, 陳淑雨, 陳蕊, 蘇依民, 榛葉健太, 神保泰彦
 Username (English) : F. Moriya, C. Chang, S. Chen, Z. Chen, Y. Su, K. Shimba, Y. Jimbo
 所属名(日本語) : 東京大学大学院工学系研究科
 Affiliation (English) : School of Engineering, The University of Tokyo
 キーワード/Keyword : リソグラフィ・露光・描画装置, バイオエレクトロニクス, バイオ&ライフサイエンス

1. 概要(Summary)

ヒト神経細胞の成熟度の評価において、神経細胞の軸索から活動を計測することで、軸索に発現したタンパク質の機能を非侵襲的に計測できる可能性がある。しかし、サイズが小さいことから十分に評価されていない。今回、マイクロデバイスを用いて、軸索から精度よく活動を計測し、伝導速度の変化を評価するデバイスを作製した。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

高速大面積電子線描画装置 F5112,
 光リソグラフィ装置 PEM800, MA-6

【実験方法】

透明導電性薄膜(Indium Tin Oxide; ITO)付ガラス基板に、フォトリソグラフィにより電極アレイパターンを形成した。さらに厚膜フォトレジストを利用したプロセスにより、シリコンゴム(PolyDiMethylSiloxane; PDMS)製のマイクロ細胞培養チャンバとマイクロトンネル構造(幅 3 μm , 高さ 5 μm , 長さ 300 μm)を作製した。デバイス内でラット大脳皮質より採取した神経細胞を培養し、マイクロトンネル内に伸長した軸索から活動計測を行った。計測した活動を基に伝導速度に要する時間を算出した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

チャンバ内に伸長した軸索を蛍光染色により可視化した。結果、1本のトンネルに最大で10本程度の軸索が伸長したことが確認された。さらに、トンネル内に配置した電極より活動を計測したところ、軸索を伝導する活動が計測された。培養10日目から5日ごとに活動を計測し、軸索ごとに活動伝導に要する時間を算出し、ヒストグラムを作成した(Fig. 1)。結果、培養日数の経過に伴い伝導時間が短縮し、神経細胞の成熟に伴う伝導速度の上昇が示唆された。以上は、本デバイスが軸索の伝導時間を指標とした神経細胞の成熟度評価に適することを示す。

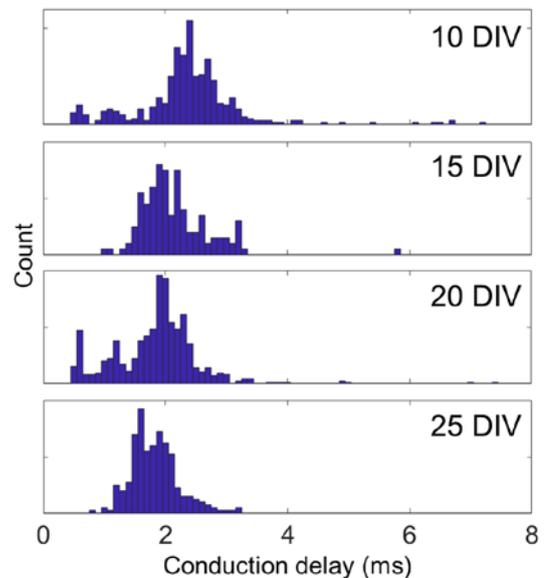


Fig. 1. Conduction delay of axons.

4. その他・特記事項(Others)

科学研究費補助金「自律神経活動変調に起因する心房細動発症機構の解明」「興奮/抑制バランスを制御した培養神経回路によるてんかん発作発生機構の解明」

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

・Kenta Shimba, Koji Sakai, Kiyoshi Kotani, Yasuhiko Jimbo, Evaluation of Subtype Specific Ion Channel Functions on Axonal Conduction of Cultured Neurons with Microfabricated Recording Device, ISSCR Annual Meeting 2019, 2019.

・Fumika Moriya, Kenta Shimba, Kiyoshi Kotani, Yasuhiko Jimbo, Change in Evoked Response of Mature Neuronal Network to Spatial Pattern Stimulation by Immature Neurons, IEEE EMBC 2019, 2019.

6. 関連特許(Patent)

なし