

課題番号 : F-21-UT-0092
 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培養細胞間の相互作用に関する研究
 Program Title (English) : Evaluating cellular interaction with microfabricated devices
 利用者名(日本語) : 森谷文香, 張智翔, 岡本美優, 陳蕊, 蘇依民, 加茂野照大, 榛葉健太, 神保泰彦
 Username (English) : F. Moriya, C. Chang, M. Okamoto, Z. Chen, Y. Su, A. Kamono, 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)

脳は複数の神経回路網から構成され、回路網間の相互作用には不明な点が多い。生体内では困難な細胞間の相互作用の評価に向け、マイクロ加工技術を用いた生体外での再構成が有効と考えられる。これまでに複数の手法が提案されているものの、大脳皮質と海馬の神経回路網間で起こる相互作用や情報のやり取りを詳細に評価した例はない。本研究では、マイクロ加工技術を用いることで課題を解決することを目指した。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

光リソグラフィ装置 PEM800, 光リソグラフィ装置 MA-6, 汎用平行平板 RIE 装置 (SAMCO RIE-10NR 装置)

【実験方法】

polydimethylsiloxane (PDMS)を鋳型に流し込んだのち熱硬化させた。鋳型はマスクアライナ(PEM800, MA-6)を用いてフォトリソグラフィにより作製した。PDMS は 2 つの培養区画と、区画間をつなぐマイクロトンネル構造から構成される。PDMS を鋳型から外したのち、汎用平行平板 RIE 装置 SAMCO RIE 10-NR を用いて PDMS を親水化した。その後、細胞接着性を向上させるために、polyethyleneimine および laminin を基板上にコートした。ラット胎児より海馬および大脳皮質の組織を取り出し、trypsin を用いて細胞を単離した。培養区画に大脳皮質と海馬の神経細胞を播種し、両者が結合を形成する様子を、免疫組織化学染色を用いた蛍光観察により評価した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

PDMS を用いて培養した海馬と大脳皮質神経細胞を Fig. 1A に示す。PDMS を成形したところ、設計したとおりに幅 10 μm のマイクロトンネル構造を形成できた(矢印)。

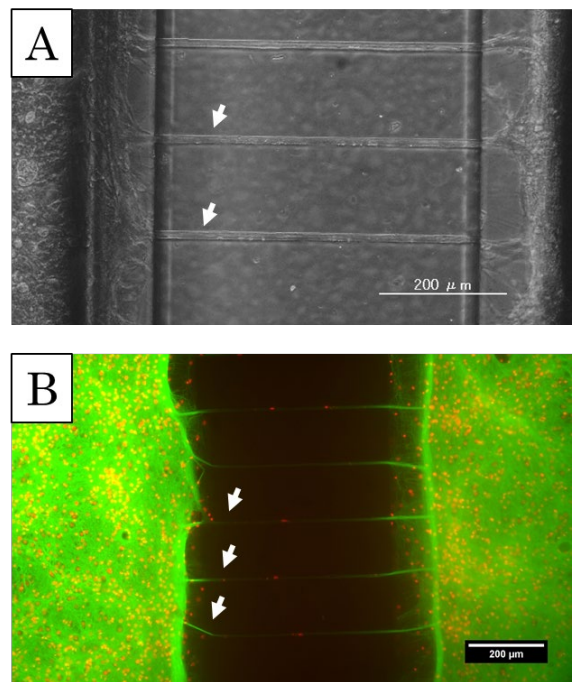


Figure 1. Phase contrast and fluorescent images.

構造の両側に神経突起がみられた。さらに、神経細胞に発現するタンパク質(緑)および細胞核(赤)を特異的に染色した(Fig. 1B)。結果、神経細胞の突起がトンネル構造を通過したことが観察できた。以上から、異種の組織を共培養するための構造が形成できたことが示された。

4. その他・特記事項(Others)

科学研究費補助金「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)

・K. Shimba et al., IEEE Transactions of Biomedical Engineering, in press.

・F. Moriya et al., Journal of Neural Engineering, 18(4), 0460e2, 2021.

6. 関連特許(Patent)

なし