

2016年1月26日(火) 13:50-14:30
六本木 泉ガーデンタワー42階 住友会館

酸化チタンの光触媒能を活用した液中ガラス表面ナノ改質による 神経細胞回路の作製とダイナミクス解析

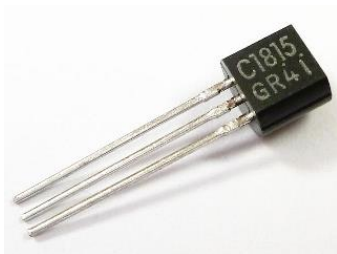
早稲田大学 理工学術院
早稲田大学 ナノ・ライフ創新研究機構
教授 谷井孝至

(元)早稲田大学 高等研究所
(現)東北大学 学際科学フロンティア研究所
早稲田大学 ナノ・ライフ創新研究機構
助教 山本英明

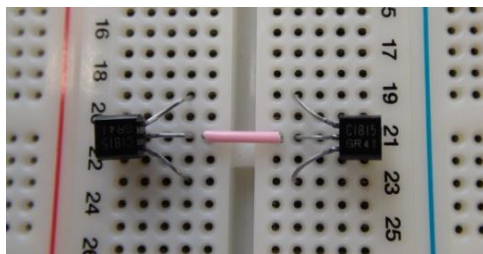
研究概要

ブレッドボード上に電子素子を配置して電子回路を作製するように...

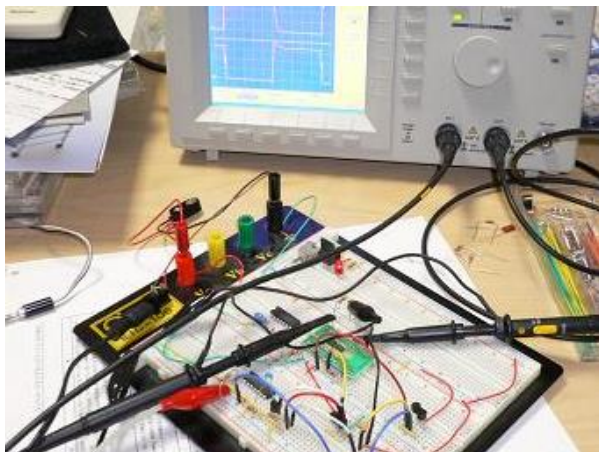
(1) PNP / NPN トランジスタの配置



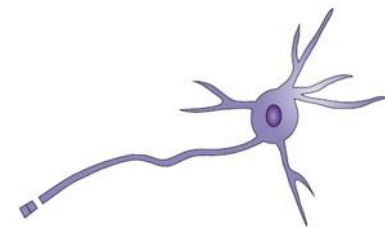
(2) 入出力端子をリード線で接続



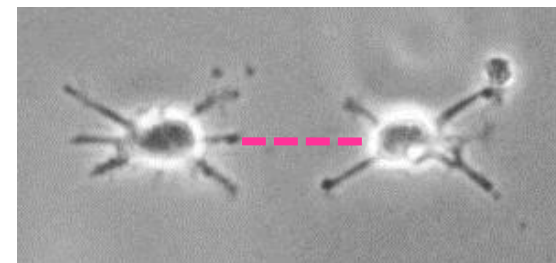
(3) オシロスコープによる解析



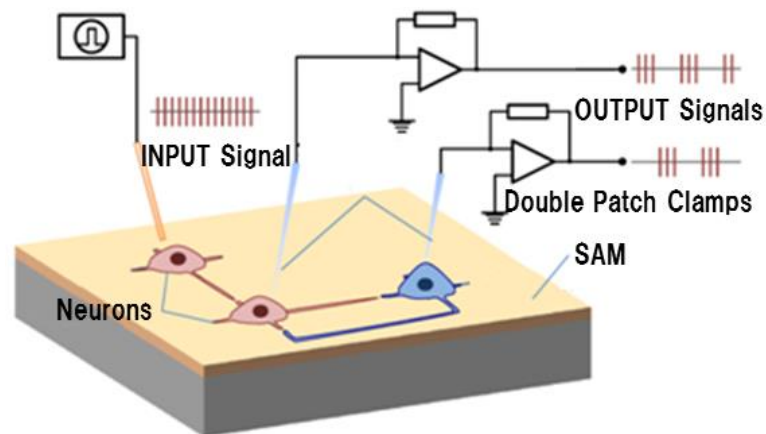
(1) 興奮性/抑制性細胞の配置



(2) 軸索と樹状突起の誘導と接続



(3) 蛍光 / MEA / パッチクランプ解析



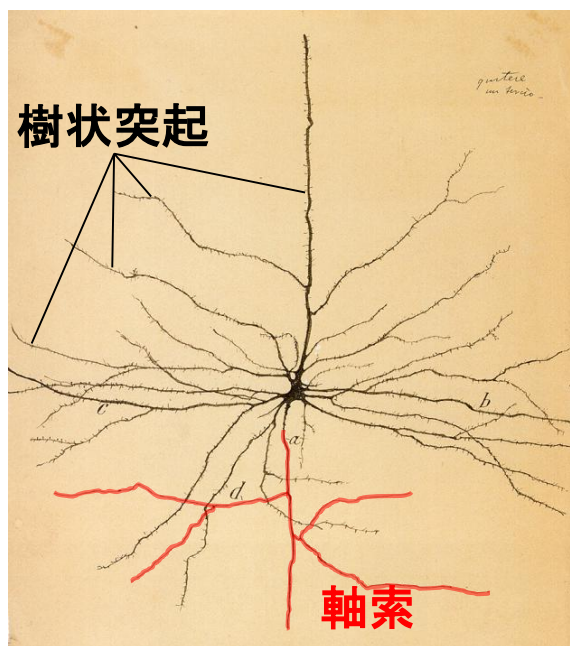
研究背景

脳の神経ネットワークの機能： 神経細胞同士の大まかな接続関係による
(回路接続様式)

規定された (1)接続方向(極性), (2)細胞種類, (3)シナプス接続

神経細胞の極性:

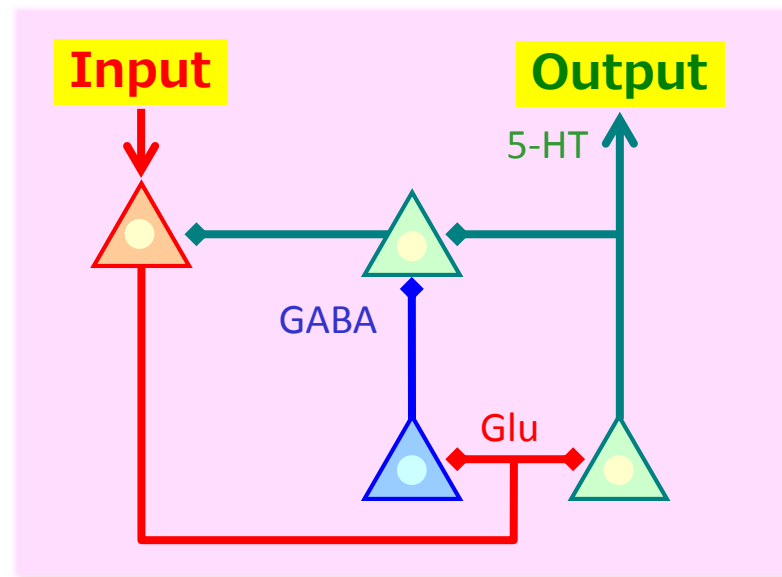
軸索(出力)と樹状突起(入力)



[Cajal (1899)]

神経細胞の種類:

興奮性, 抑制性, ...



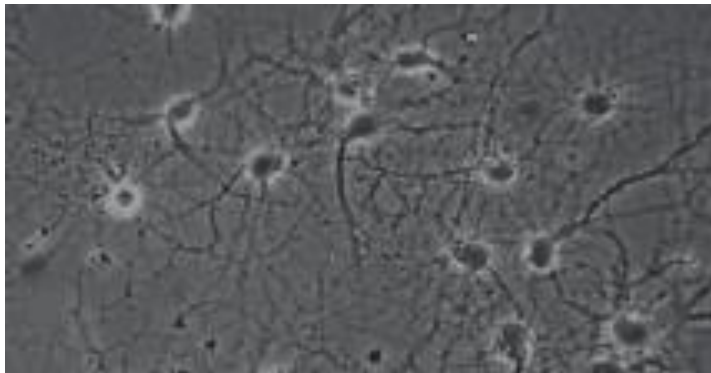
[Celada et al. (2001) J Neurosci]

研究背景

脳の神経ネットワークの機能： 神経細胞同士の大まかな接続関係による
(回路接続様式)

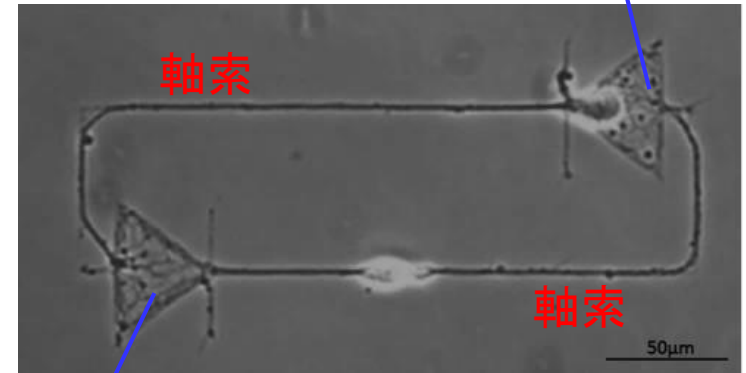
規定された (1)接続方向(極性), (2)細胞種類, (3)シナプス接続

通常のプラスチックシャーレでの培養



ランダムネットワーク

ナノ・マイクロ加工による成長制御

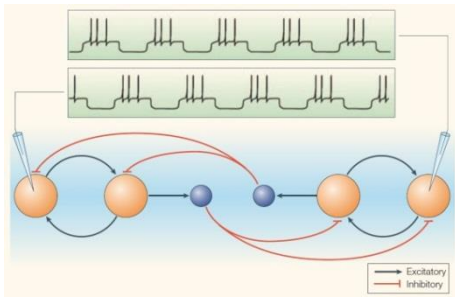


樹状突起



細胞間接続を制御できる可能性あり

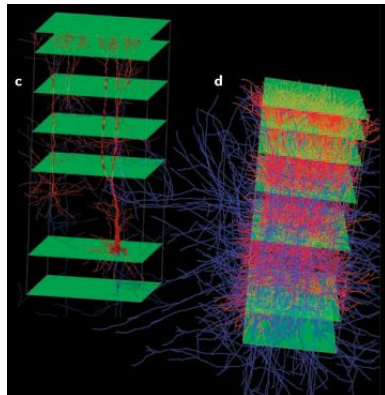
見込まれる応用例



神経科学の基礎学理

- ネットワークの時空間ダイナミクス解析(信号伝搬, 同期発火)
- 外界からの伝搬信号の変調
- 発火活動に異存的なネットワーク再構成の解析

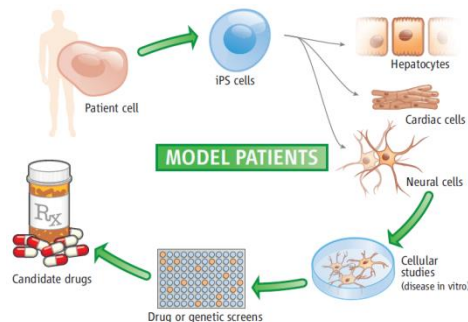
Yuste et al. (2005) Nat Rev Neurosci



脳型計算機アーキテクチャに向けて

- 情報表現(時空間ダイナミクス)
- パラメータ抽出(細胞数・シナプス接続数・強度、突起伝搬)
- アルゴリズム(外部刺激/自発活動)

Markram (2006) Nat Rev Neurosci



神経疾患モデルプラットフォーム/創薬

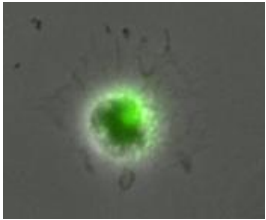
- インビトロ創薬 (cf. “Organ-on-a-Chip” Don Ingber)
- 異常な神経活動に対するモデル

Vogel (2010) Science

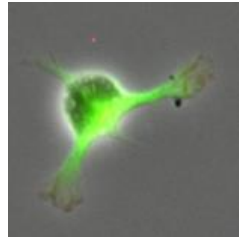
神経細胞の極性制御(従来法)

通常のシャーレ上での培養 → 免疫染色 (Tau/MAP2) により判別可能
ただし、細胞は失活

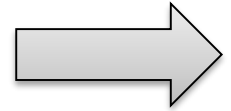
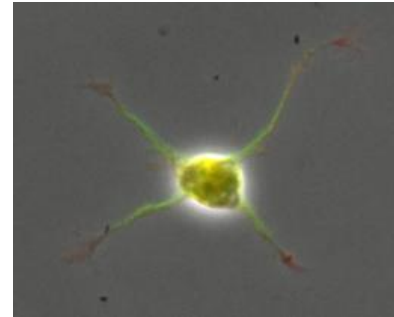
Stage 1



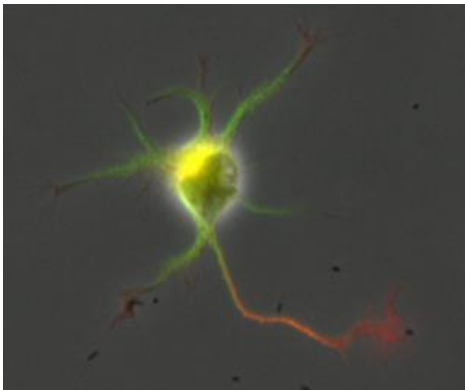
Stage 1/2



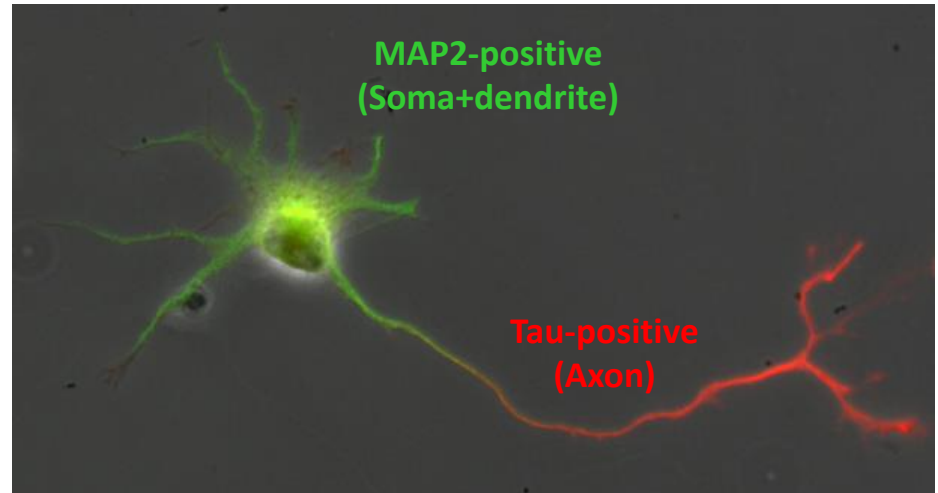
Stage 2



Stage 2/3

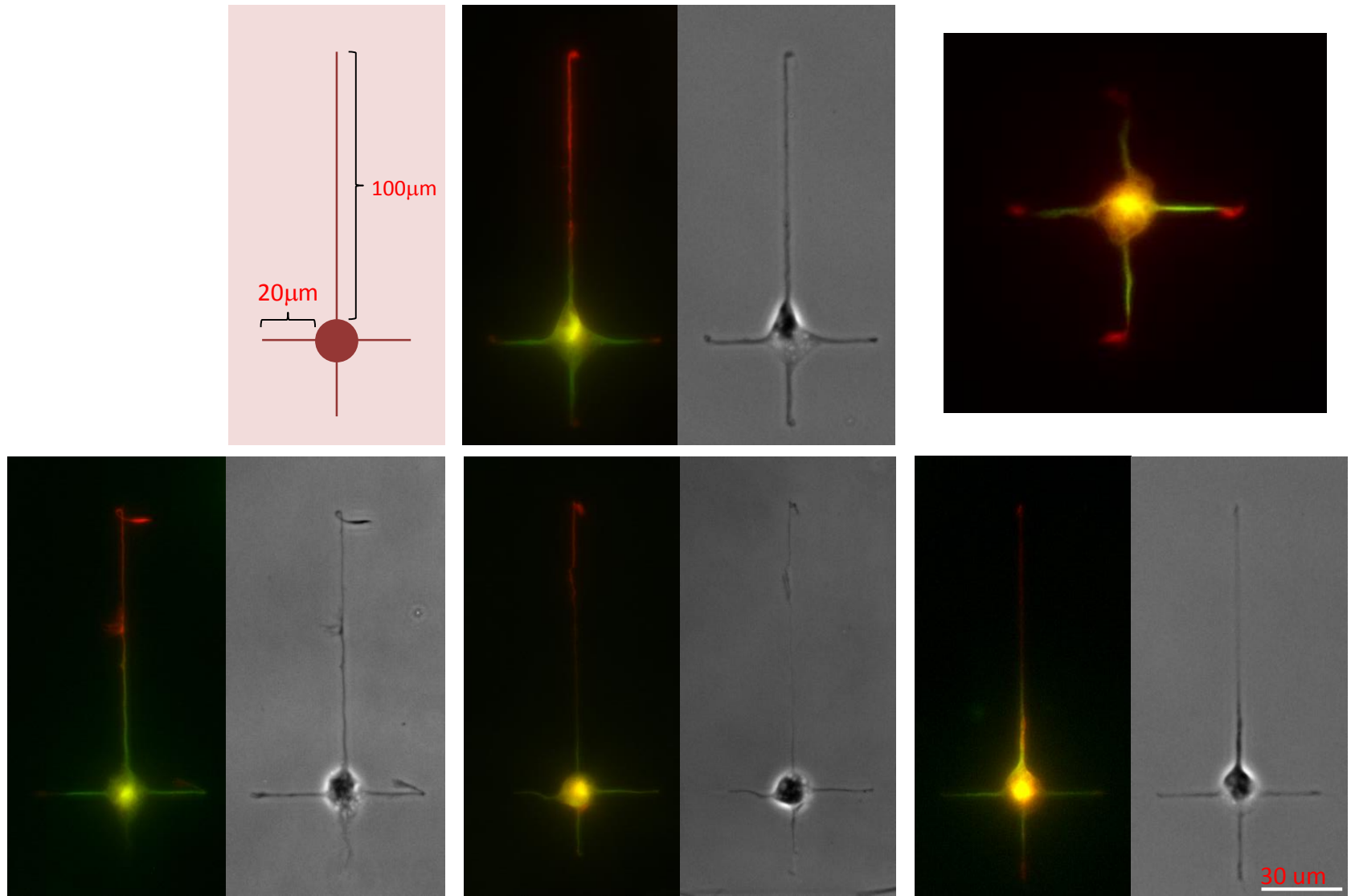


Stage 3

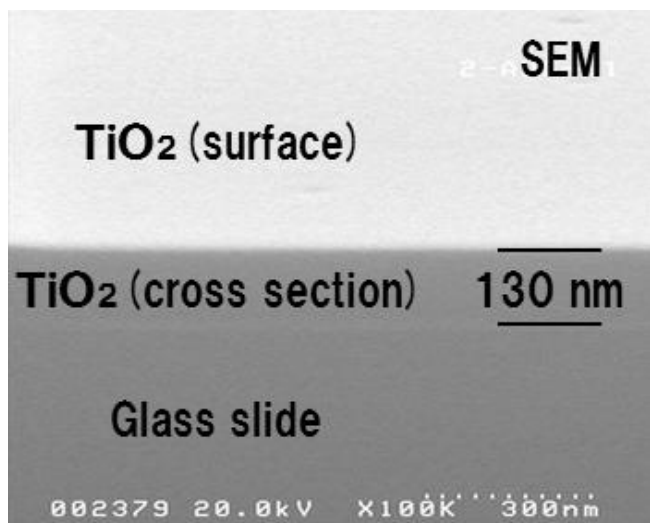


神経細胞の極性制御(新提案: 非対称マイクロパターンによる突起誘導)

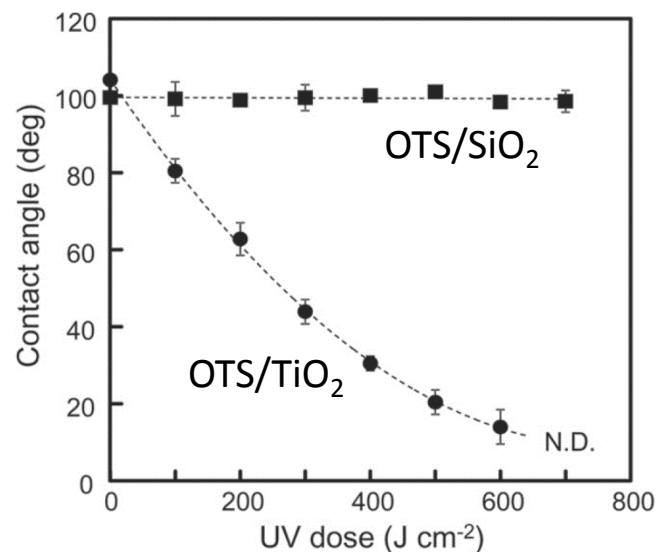
神経突起のうち、もっとも長く伸ばした1本が軸索に分化 (E18 ラット海馬初代培養)



酸化チタン表面に成膜したオクタデシルシラン単分子膜の水中光分解

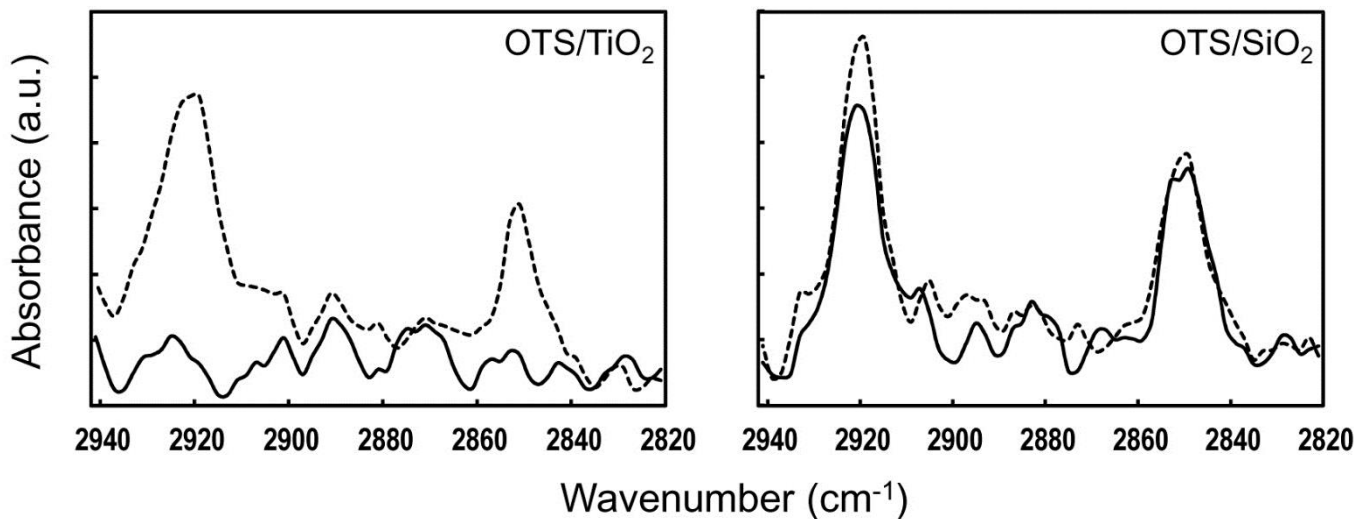


Sputter-deposited TiO₂ layer (鳥瞰図)



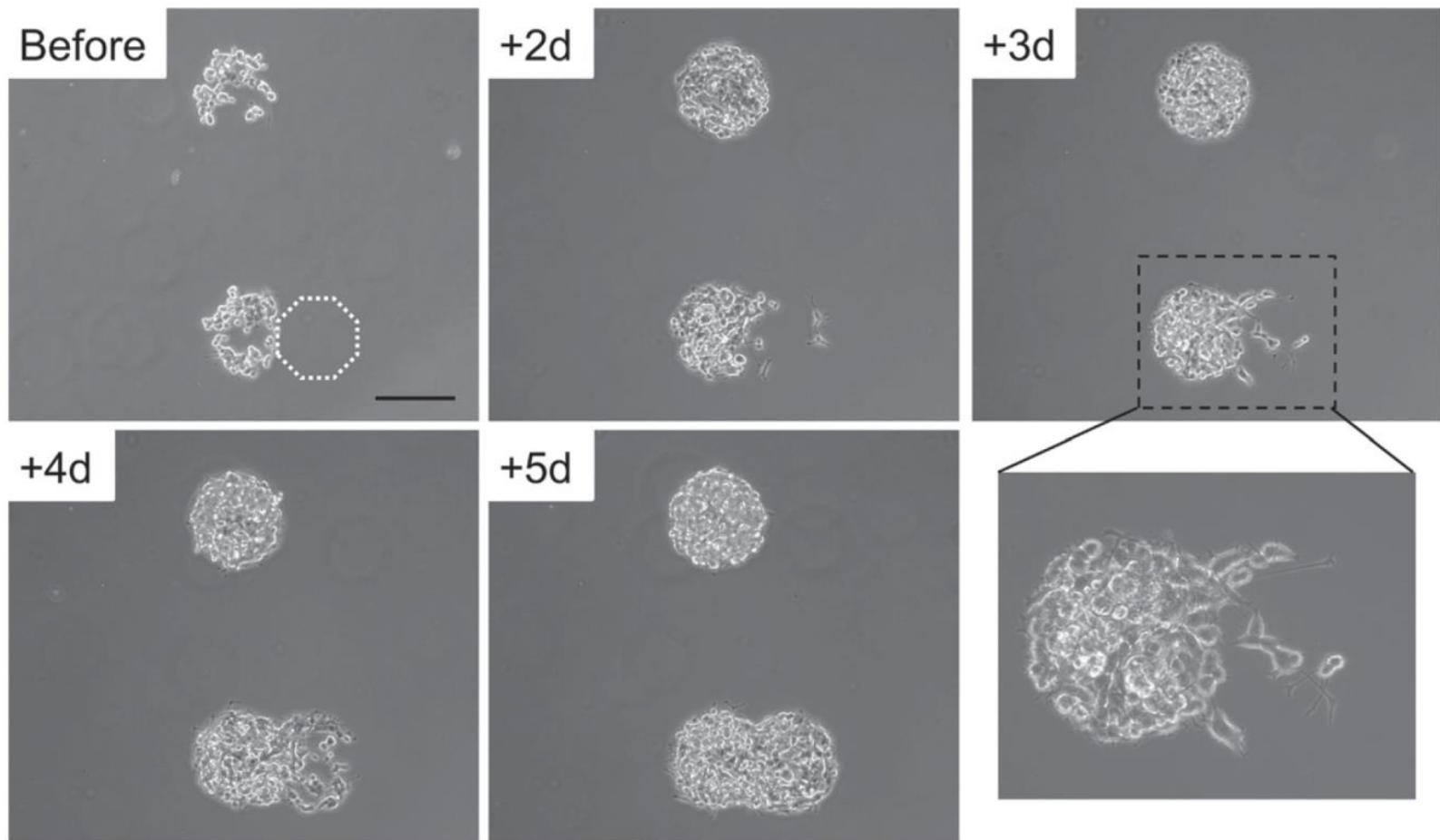
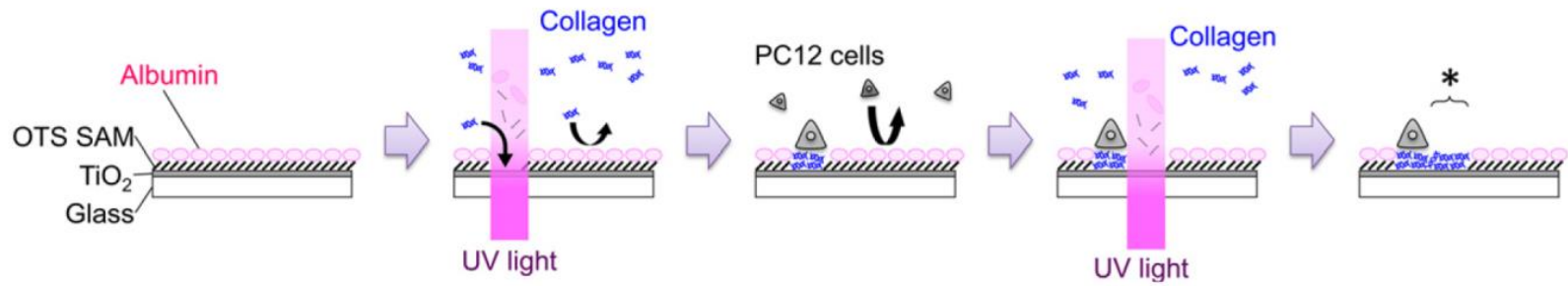
Water-contact angle

--- UV- — UV+

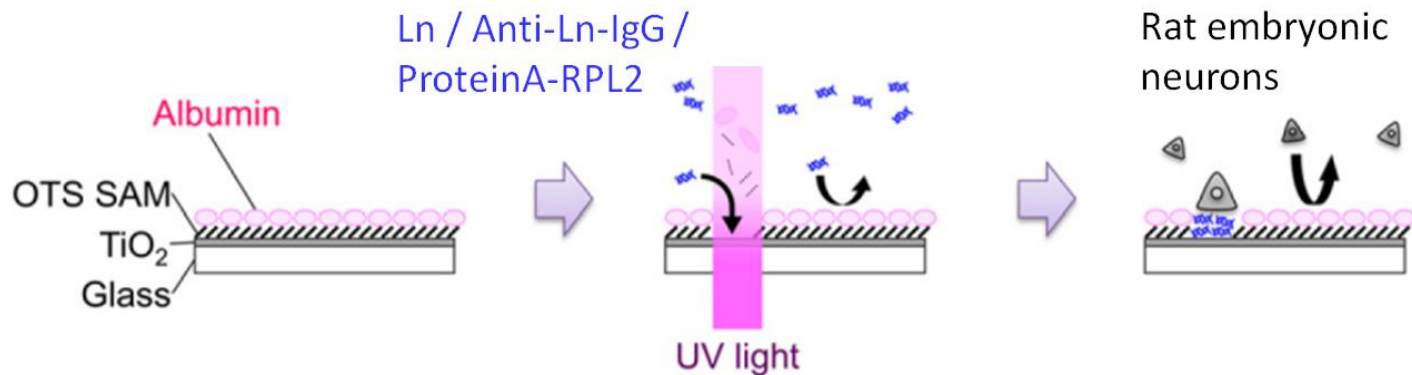


Infrared absorption spectra

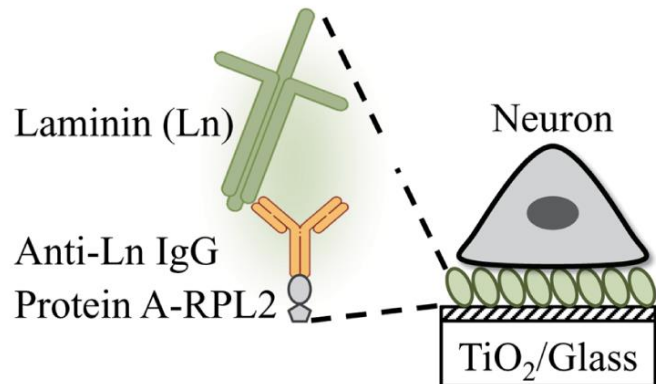
酸化チタン表面に接着させたpc12細胞の液中パターンニング



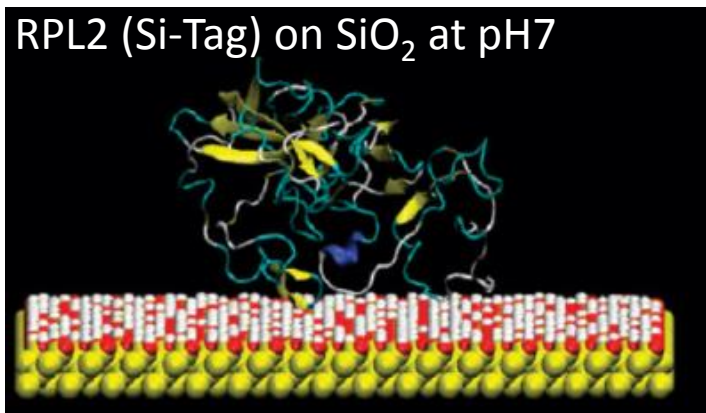
酸化チタン表面に接着させたE18ラット海馬初代培養細胞の液中パターンニング



※ ProteinA-RPL2 は開発者の広島大 池田 文博士、黒田章夫教授
が提供して下さいました。 T. Ikeda et al: *Anal. Biochem.* 2009



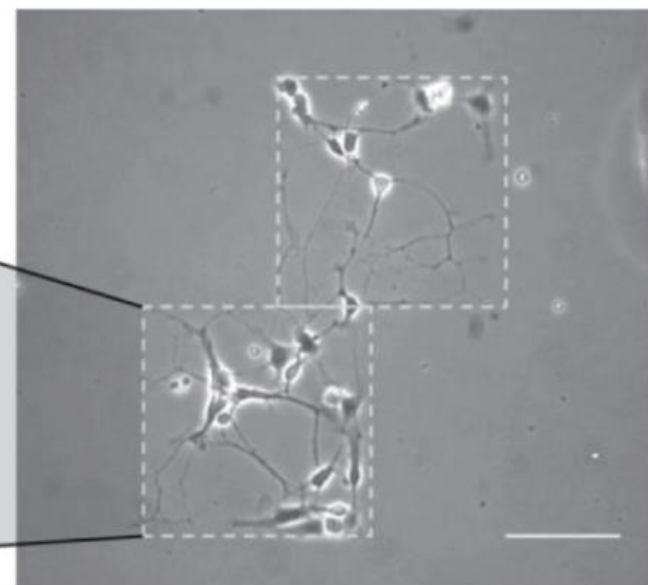
RPL2 (Si-Tag) on SiO₂ at pH7



200 μm

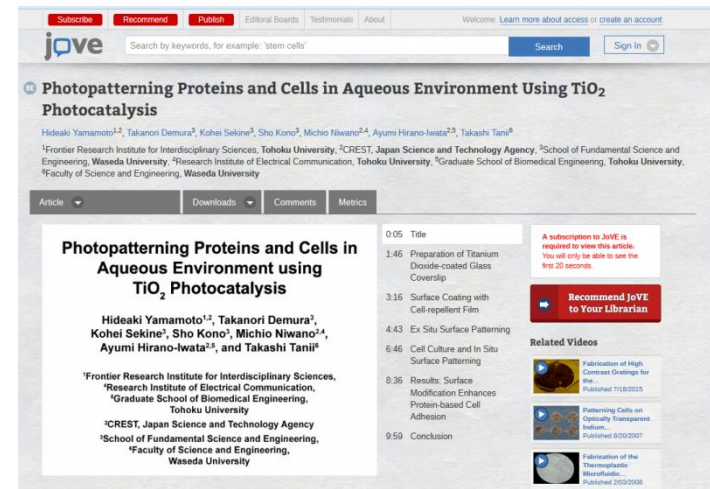


10 μm Pitch



まとめ

- 半導体微細加工で用いるリソグラフィ技術を用いて、ガラス表面上に有機膜のナノ・マイクロパターンを作製する方法を紹介した。
- これにより、パターン上に選択的に生体分子を固定できる。また、細胞接着性/非接着性膜のパターニングにより、個々の細胞の接着や形状の制御も可能となる。
- 非対称パターン上に単一(E18ラット海馬)神経細胞を接着させることにより、非標識かつ活性を維持したまま、極性制御、および、興奮性/抑制性判別が可能となる。
- ガラス表面に酸化チタンを蒸着することにより、その表面に成膜した有機膜を局所的に光分解でき、液中細胞パターニングに応用できる。
- 酸化チタン薄膜の光触媒能について、可視光応答性も含めて、今後、改良していきたい。
- 上記の手法は、構成論的に実神経細胞を素子とする神経回路の構築・解析に有用である。



H. Yamamoto et al: JoVE 2015