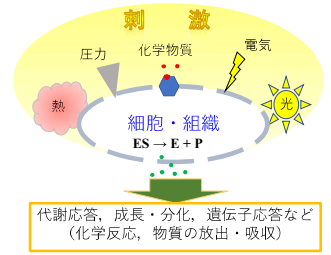


ピンポイント化学刺激による細胞・生体組織の低侵襲観察法の構築 -局所グルタミン酸放出マイクロデバイスによるアストロサイトの刺激-

電気・電子情報工学系 服部敏明

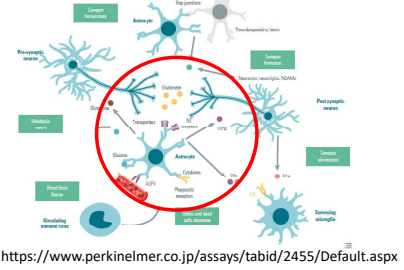
背景

体内での細胞の活動を知る手法として、細胞内外の生体物質を可視化し、観察を行う**バイオイメーjing**が使われています。バイオイメーjingによる細胞の観察は、生体物質の検出と可視化する手法ですが、細胞の動態を知るには単に観察だけでなく、適当な刺激手法の開発が必要となります。細胞に対する刺激方法としては、電気刺激、物理刺激、光刺激、化学刺激などの方法があります。これらの刺激手法の中で、**化学刺激法**は細胞に作用する物質を指定できるため、特定のレセプタを選択的に刺激することができ、他の刺激方法より細胞の刺激に対する動態の作用機序を詳細に観察することが可能になります。しかし、一般的に行われるナノ・マイクロインジェクションでは、添加流速とその後の拡散により刺激物質が遠方まで広がってしまうため、同じ測定系で再度の実験を行うことは一般的に困難です。そこで、刺激物質の添加流速を抑えて、**局所での刺激**が可能になれば、**同じ測定系内で複数の刺激の挙動**ができるようになります。また、刺激物質の回収や無害化プローブを併用すれば、同じ場所での複数回の刺激が可能になると考えられます。我々は、「**ピンポイント化学刺激による細胞・生体組織の低侵襲観察法の構築**」を目指した研究を行っています。今回は、電気化学的マイクロデバイスを使ったアストロサイトの一細胞を刺激する方法を開発しました。



アストロサイトは、哺乳類の脳の中で最も数が多い細胞で、灰白質全体に分布しており、脳の機能と可塑性を調節します。アストロサイトは、血液脳関門の構造的完全性、神経細胞への代謝サポート、シナプス形成・維持・除去、およびイオンと神経伝達物質のリサイクルなど様々な重要な機能を担っています。神経細胞のように非常に多様で不均一であり、脳の領域と発達段階に応じて異なる特性を持っていると言われています。

アストロサイトの機能の一つとして、**グルタミン酸トランスポーター**と**GABAトランスポーター**により神経伝達物質の取り込みと、その後の細胞質グルタミン合成酵素によるグルタミンへの変換を可能にすることが知られています。取り込みと変換後に、グルタミンは分泌され、さらに神経伝達物質群の合成のために神経細胞に取り込まれます。この制御作用は、興奮毒性、過度な神経細胞の活性化、および細胞死につながる可能性がある**グルタミン酸の蓄積を防ぎます**。



マイクロデバイスの作製

Gluの電解放出原理

放出デバイス 電極電位を還元電位へシフト

PEDOT: ポリ(3,4-エチレンジオキシチオフェン)

このポリマー膜を還元させると、ポリマー中の+電荷が失われ、ポリマー膜からグルタミン酸イオンが外れ、溶液中へグルタミン酸イオンが放出される。

PEDOT:Gluの電解重合

電解重合条件	
作用極	金電極 (φ50 μm)
対極	プラチナ線 (φ1 mm)
参照極	Ag AgCl (sat. KCl)
溶液	EDOT 0.01 M, NaGlu 0.1 M in H ₂ O (3 mL)
印加電圧	-0.9 ~ 1.2 V (20.5 Cycle)
印加時間	50分

試薬

3,4-エチレンジオキシチオフェン (EDOT)

L-グルタミン酸ナトリウム (NaGlu)

アストロサイトの一細胞に対する刺激実験

蛍光顕微鏡観察像

測定系

デバイスの先のアストロサイト周りのみCa²⁺濃度が上がっている

放出量が微小であったため、実験が10回中1回しか成功しなかった

通常の対極 Pt

還元剤入りの対極 還元剤

$4OH^- \rightarrow O_2 + 4e^- + H_2O$

水酸化イオンの酸化反応によって電子を作用極に供給

$H_2C_2O_4 \rightarrow 2CO_2 + 2H^+ + 2e^-$

還元剤によって対極での酸化電極反応をスムーズにして電子を作用極に供給する

対極に還元剤用いることで放出するグルタミン酸量を増大させる

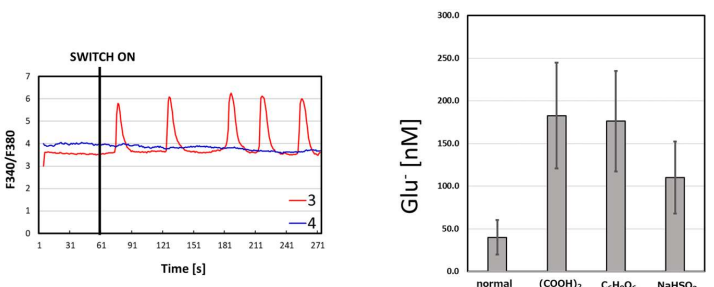
確かな刺激実験のために短時間で多くのGluを放出するデバイスが必要

蛍光顕微鏡観察像

before reaction after reaction

デバイスの影写真

SWITCH ON



アストロサイト細胞に対して**13回中7回**刺激させることに成功し、また、洗浄後での再度刺激にも成功した。

還元剤による放出量増加の効果