

研究種目：基盤研究（B）
研究期間：2007～2010
課題番号：18300154
研究課題名（和文） 集積化電気化学マイクロポンプを利用した人工シナプスの開発
研究課題名（英文） Development of an artificial synapse using integrated electrochemical micropump
研究代表者
(1) 吉見 靖男 （芝浦工業大学・工学部・准教授）
(2) 30267421

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学 医用生体工学・生体材料学

キーワード：電気化学マイクロポンプ、人工神経、神経イメージング

1. 研究計画の概要

電気刺激電極に変わる神経インターフェイスとして、神経伝達物質を神経に投与する集積化マイクロポンプの開発を目的とする。

(1) 小型化・集積化が可能なチップ型電気化学マイクロポンプの開発

水の電気分解を駆動力とする電気化学マイクロポンプと、伝達物質溶液を逐次補充するための電気化学バルブを内蔵したチップを開発する。

(2) マイクロポンプによる神経シグナル制御

電気化学マイクロポンプによって、神経細胞を刺激し、膜電位シグナルを制御する。

(3) 神経ネットワークを検出できる膜電位イメージング法の開発

マイクロポンプによる神経ネットワーク制御を評価するため、神経細胞膜電位変化を追跡できる膜電位イメージング法を確立する。

2. 研究の進捗状況

(1) チップ型電気化学マイクロポンプの開発

微細加工が可能なシリコン樹脂材料ポリジメチルシロキサン（PDMS）を基材としたマイクロポンプを作製した。また、伝達物質溶液の逐次バルブの駆動力として、白金黒電極における水の電気分解を利用した。白金黒電極では、電気分解により発生した気泡は電極表面によく付着する。そして電圧印加を停止すると白金の触媒作用で気泡は迅速に消失する。この時の圧力変化を利用しダイア

フラムを変形させることで流路を開閉できる素子を試作した。

玩具用熱収縮ポリスチレン板（通称 プラ板）にレーザープリンタで流路を描画し、熱収縮させて、トナーより成る鋳型を作製した。鋳型に流動性のある PDMS プレポリマーを流し込み、加熱固化させ、バルブチャンバー、流路の溝（深さ 0.05 mm）を形成したチップ状のパーツを作製した。このパーツを重ね合わせ、電気化学マイクロバルブを作製した。バルブチャンバーには白金黒電極を配置し、塩化カリウム水溶液を充填した。

このマイクロポンプは、1 s 間の吐出の場合、2 s 前にバルブを閉じれば、吐出開始、吐出停止とも 1 s のタイムラグで可能となる事が確認された。

(2) マイクロポンプによる神経シグナルの制御

電気化学マイクロポンプで、アメフラシ神経節中の神経細胞の選択的刺激を試みた。しかし、神経細胞中のレセプターが豊富な部位は、神経節の表層にはなく、伝達物質のピンポイントな投与は困難であった。そこで、培養神経細胞に伝達物質を投与することで、刺激を試みた。

電気化学マイクロポンプをシリコンシャーレに埋め込み、吐出口を設けた細胞培養ステージを作製した。アメフラシの腹部神経節に存在し、アセチルコリンに対して興奮性の応答を示す神経細胞を単離し、吐出

口付近に接着させた。アセチルコリンを含む人工海水を神経細胞に吐出した。その結果、ポンプ作動直後に興奮性シナプス後電位 (EPSP) が発生した。電気化学マイクロポンプ・バルブは、神経細胞に伝達物質を投与でき、神経細胞への化学的な刺激デバイスとして利用できることが示唆された。

(3) 蛍光膜電位イメージングによる神経ネットワークの解析法の開発

最も古くから開発されている膜電位感受性色素 (Di-4-ANEPPS) で神経節を染色し、アメフラシ神経膜電位を検出する方法を開発した。アメフラシは膜電位感受性色素が染まりにくく、膜電位イメージングが困難であるという問題があった。本研究では神経節を予め、プロテアーゼで処理することで、活動電位や EPSP に対応した蛍光強度変化を明確に検出できた。これは、神経細胞を覆う細胞マトリックスをプロテアーゼで除去したためと考えられる。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している

理由：当初目的としていた、集積化電気化学マイクロポンプによる神経節中の神経細胞の活動制御は、あまりに困難であることが分かった。しかし電気化学マイクロポンプは、興奮性シナプス電位に対応した速度での吐出制御を実現した。培養細胞をターゲットとすれば、ネットワーク制御は十分に可能であり、神経インターフェイスへの応用の可能性が高いことが示された。またアメフラシの蛍光膜電位イメージングを世界に先駆けて成功させた。これは神経科学の基礎研究に与えるインパクトも大きい。

4. 今後の研究の推進方策

単離したアメフラシ神経を 10 個程度、電気化学マイクロポンプを仕込んだ PDMS 上で培養し、軸索を伸展させてネットワークを形成させる。その神経細胞を膜電位感受性色素で染色し、蛍光イメージング法でネットワーク活動を検出する。マイクロポンプからの神経伝達物質投与によるネットワーク活動の制御能を、膜電位イメージングから評価する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

1 件投稿中、1 件準備中。

[学会発表] (計 13 件)

- (1) 松本 直子, 吉田 優太, 青木 一途, 赤池 哲, 吉見 靖男: アメフラシ培養神経細胞の光学的膜電位イメージング法の開発, 日本膜学会第 31 年会 (東京), 2009 年 5 月 22 日
- (2) 吉見 靖男, 赤池 哲: 集積化電気化学ポンプ/バルブの開発およびそれを用いた神経シグナル制御, 電気化学会 76 回大会 (京都), 2009 年 3 月 30 日
- (3) 吉見 靖男, 青木 一途, 赤池 哲: 蛍光膜電位イメージング法によるアメフラシ神経の中枢パターン機構シグナルの検出, 電気化学会 76 回大会 (京都), 2009 年 3 月 29 日
- (4) 赤池 哲, 吉見 靖男: 液の再充填が可能な電気化学マイクロポンプ・バルブの開発, 第 46 回日本人工臓器学会大会 (東京), 2008 年 11 月 29 日
- (5) Y. Yoshimi, K. Aoki, S. Akaike, N. Aota: Stabilized voltage imaging of *Aplysia* neuron in ganglion using di-4- ANEPPS and agarose gel, Annual Meeting of Society for Neuroscience (San Diego), 2007 年 11 月 4 日

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]