

## 薄膜型マイクロ流体デバイスを用いた ヒト iPS 細胞由来大脳皮質神経細胞のパターン培養

Patterned culture of human iPS cell-derived cortical neurons using microfluidic devices

東北大院工<sup>1</sup> 東北大通研<sup>2</sup> 東北大 AIMR<sup>3</sup> 東北大院薬<sup>4</sup> 同志社大院脳<sup>5</sup>

酒井原一守<sup>1,2</sup>, 山本英明<sup>1-3</sup>, 西村周泰<sup>5</sup>, 遠藤壮太<sup>1,2</sup>, 金野智浩<sup>4</sup>, 佐藤茂雄<sup>1,2</sup>,

正水芳人<sup>5</sup>, 平野愛弓<sup>1-3</sup>

Grad. Sch. Eng<sup>1</sup>, RIEC<sup>2</sup>, AIMR<sup>3</sup>, and Grad. Sch. Pharm. Sci.<sup>4</sup>, Tohoku Univ.; Grad. Sch. Brain Sci., Doshisha Univ.<sup>5</sup>

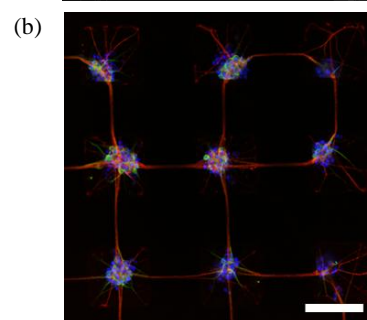
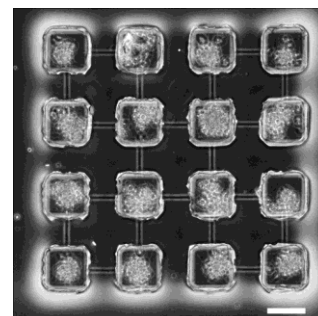
°M. Sakaibara<sup>1,2</sup>, H. Yamamoto<sup>1-3</sup>, K. Nishimura<sup>5</sup>, S. Endo<sup>1,2</sup>, T. Konno<sup>4</sup>, S. Sato<sup>1,2</sup>, Y. Masamizu<sup>5</sup>, A. Hirano-Iwata<sup>1-3</sup>

E-mail: mamoru.sakaibara.s2@dc.tohoku.ac.jp

【背景・目的】神経疾患の研究では、神経ネットワークの変性・変調や、新たな治療戦略の開発のために、*in vitro* 実験が広く用いられている。特に近年ではマイクロ流体デバイスを用いた生体模倣システムの進歩により、生態学的関連性を高めた化合物応答モデルが数多く登場し、神経変性疾患に対する理解が進められている(P. M. Holloway et al., *J. Neurosci. Res.* 2021)。また動物実験代替法や実験動物細胞との種差の壁の克服という観点から、ヒト iPS 細胞 (iPSC) 由来神経細胞を用いた研究も重要性が増している (A. Odawara et al., *Toxicol. Sci.* 2022)。しかしマイクロ流体デバイスに広く用いられるポリジメチルシロキサン (PDMS) は、ヒト神経細胞の足場基質である Laminin-511 が吸着し、PDMS 上に神経ネットワークが非特異的に成長してしまうという問題があった。そこで本研究では、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン (MPC) ポリマーで PDMS をコーティングすることでマイクロ流体デバイスへの Laminin の非特異吸着を抑制し、ヒト iPS 細胞由来大脳皮質神経細胞のパターニング培養を行ったので、その結果を報告する。

【実験方法・結果】神経細胞パターニングのためのマイクロ流体 (a) デバイスは、先行研究を基に PDMS を用いて作製した (T. Takemuro et al., *Jpn. J. Appl. Phys.* 2020)。MPC ポリマー溶液は、99.5%エタノール中に PMSi90 を 0.5wt% の濃度で混合することで調製した (Y. Xu et al., *Lab Chip* 2006)。洗浄後の PDMS フィルムを大気プラズマで 10 秒間処理した後、MPC ポリマー溶液中に 1 分間浸漬し、エタノール雰囲気下で 20 分乾燥後、70 °C で 4 時間ベークを行い、一晚減圧乾燥した。コート後の PDMS フィルムをガラス基板に貼り付け、Laminin-511 (2.4 µg/mL) を一晚コートし、ヒト大脳皮質神経前駆細胞を培養した。培養 7 日目にて MPC ポリマーによる Laminin 非接着コーティングの評価を行った (Fig. a, n = 36)。PDMS フィルム上に接着した細胞数は 1.6 個、軸索数は 3.7 本であり、コート無しのフィルムと比較して、それぞれ 95%、91% 減少した。また培養 15 日目に免疫染色を行うことで、パターニング領域内でヒト大脳皮質神経細胞が成熟した様子を観察した (Fig. b)。発表では、カルシウムイメージングによる大脳皮質神経細胞の自発活動についても報告する予定である。

本稿の内容の一部は、学術変革領域研究(A)「脳神経マルチセルラバイオ計算の理解とバイオ超越への挑戦」、科研費、JST-CREST、東北大学電気通信研究所共同プロジェクト研究の成果に基づくものである。



MAP2 / TAU / DAPI

Fig: (a) Cultured hiPSC-derived cortical neuron on MPC polymer-coated film. (b) Immunostaining of micropatterned hiPSC-derived cortical neurons. Scale bar = 100 µm.