

様式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成24年度）

1. 機関番号

3	2	6	9	2
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 東京工科大学

3. 研究種目名 若手研究(B) 4. 補助事業期間 平成24年度～平成25年度

5. 課題番号

2	4	7	0	0	4	8	5
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題 3次元脳回路モデルの再構成技術と神経伝達物質のリアルタイム計測技術の開発

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
9 0 5 1 6 3 1 1	スズキ イクロー 鈴木 郁郎	応用生物学部	助教

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

<p>本年度は、脳神経回路の3次元培養技術と細胞から放出される神経伝達物質をリアルタイムに計測可能な平面微小電極アレイチップの開発を主に行った。具体的な成果は以下のとおりである。</p> <p>1. 脳神経回路の3次元培養技術の開発</p> <p>大脳皮質の層構造を模倣する神経回路の3次元培養技術を開発した。PDMSマイクロチャンバに初代神経細胞を積層化させ、細胞体位置を制御し、コラーゲン繊維配向技術を用いて、神経突起の伸長方向を3次元空間内に制御した脳回路モデルを構築した。細胞体層のZ軸断面をHE染色した結果、約50μmの厚さであり細胞体密度は生体脳と同等であった。また、層間を伝播する活動電位のスピードを計測したところ、脳スライス大脳皮質における層間の伝播スピードと同等であった。また、細胞数、細胞種、神経突起の伸長方向を制御した3次元マイクロネットワークの構築技術を開発した。コラーゲンゲル上に神経細胞を播種後、培養中に細胞周りのコラーゲンゲルをレーザーエッチングすることにより、他の細胞から隔離する技術である。本研究成果はLab on a chip誌の表紙に採択された。他の課題として、エキシマレーザー加工技術を用いた生体適合性材料の3次元空間内に細胞を埋め込む技術を開発した。</p> <p>2. 神経伝達物質をリアルタイム計測可能な平面微小電極アレイの開発</p> <p>ITO微小電極上へのカーボンナノチューブ(CNT)電気めっき技術を開発し、CNT微小平面多電極アレイを開発した。作製したCNT微小電極を用いて、1nMの濃度でドーパミンの検出に成功した。また、マウス脳スライス線条体部位から放出されるドーパミン、海馬スライスからのシナプス後電位、培養細胞からの活動電位のリアルタイム計測に成功した。In vitro神経細胞の活動電位、プレシナプス、ポストシナプスの機能を非侵襲かつリアルタイムに計測できる技術である。</p>

10. キーワード

- | | | | |
|----------------|------------|-----------|------------|
| (1) 3次元培養 | (2) 神経回路 | (3) 組織モデル | (4) 神経伝達物質 |
| (5) カーボンナノチューブ | (6) 多電極アレイ | (7) 電気化学 | (8) |

11. 現在までの達成度

(区分)(1) 当初の計画以上に進展している。

(理由)

3次元培養技術の開発においては、当初の予定より研究成果があがり、4報の論文を書いた(3報採択、現在1報のリバイズ中である)。また、神経伝達物質の計測においては、実際の脳スライスからドーパミンをリアルタイム検出することに成功し、論文2報を投稿した(1報採択、現在1報のリバイズ中である)。上記6報の論文と多電極アレイを用いた応用研究(アミロイド が及ぼす神経活動への影響とチモキノンによる保護作用)に関して1報論文を書いたため、本年度は計7報の論文を書いた。当初の計画以上に進展した根拠である。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

今後は、開発した3次元培養技術の発展と新しい3次元培養技術を開発すると共に、3次元培養による神経細胞の成熟化を神経活動、各種イオンチャンネルの発現を指標に調べる。また、血管構造を組み込んだ3次元組織モデルの開発を行う予定である。神経伝達物質の計測技術は、より高感度を示す材料の検討を行う。得られた研究成果をできる限り迅速に論文投稿する。

(次年度の研究費の使用計画)

実験に使用する消耗品費を主として使用するが、研究成果が出てきたため、論文投稿費と学会発表費に半額程度の50万円(今年度の直接経費:90万円)を使用する予定である。

13.研究発表(平成24年度の研究成果)

〔雑誌論文〕計(6)件 うち査読付論文 計(6)件

著者名		論文標題			
Odawara A, Gotoh M, Suzuki I.		Control of neural network patterning using collagen gel photothermal etching.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Lab Chip.	有	13(11)	2 0 1 3	2040-2046	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1039/c3lc00036b.					

著者名		論文標題			
Suzuki I.		Front cover			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Lab Chip.	有	13(11)	2 0 1 3	1981-1981	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1039/C3LC90043F					

著者名		論文標題			
Suzuki I, Nakamura K, Odawara A, Alhebshi A, Gotoh M.		A simplified micropatterning method for straight-line neurite extension of cultured hippocampal neurons.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Anal Sci.	有	29(2)	2 0 1 3	263-266	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
なし					

著者名	論文標題			
Alhebshi AH, Gotoh M, Suzuki I	Thymoquinone protects cultured rat primary neurons against amyloid -induced neurotoxicity.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Biochem Biophys Res Commun.	有	433(4)	2 0 1 3	362-367
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)				
10.1016/j.bbrc.2012.11.139.				

著者名	論文標題【掲載確定】			
Suzuki I, Fukuda M, Shirakawa K, Jiko H, Gotoh M.	Carbon nanotube multi-electrode array chips for noninvasive real-time measurement of dopamine, action potentials, and postsynaptic potentials			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Biosensors and Bioelectronics	有	in press	2 0 1 3	in press
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)				
なし				

著者名	論文標題【掲載確定】			
I.Suzuki, S. Amano, A. Odawara, M. Gotoh.	Development of the neuronal network embedding techniques by three-dimensional processing of the biomaterials using an excimer laser.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Journal of life support engineering	有	25	2 0 1 3	in press
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)				
なし				

〔学会発表〕計(24)件 うち招待講演 計(0)件

発表者名	発表標題	
A. Odawara, I. Suzuki, M. Gotoh	Three-dimensional neuron culture method controlling the direction of neurite elongation and the position of soma	
学会等名	発表年月日	発表場所
Micro total analysis system 2012(16th Int. conf. on miniaturised systems in chemistry and life sciences)	2012年10月30日	Convention center, Okinawa, Japan

発表者名	発表標題	
I. Suzuki, M. Fukuda, M. Gotoh	DEVELOPMENT OF CARBON NANOTUBE MICROELECTRODE ARRAY FOR REAL-TIME EXTRACELLULAR RECORDING OF NEUROTRANSMITTER	
学会等名	発表年月日	発表場所
10th FENS (Federation of European Neurosciences)	2012年07月18日	International convention center, Barcelona, Spain

発表者名	発表標題	
A. Alhibshi, I. Suzuki, M. Gotoh	Protective effects of thymoquinone against amyloid induced neurotoxicity in cultured rat primary neurons	
学会等名	発表年月日	発表場所
10th FENS (Federation of European Neurosciences)	2012年07月15日	International convention center, Barcelona, Spain

発表者名	発表標題	
I. Suzuki, M. Fukuda, A. Odawara, A. Alhibshi, M. Gotoh	A novel multi-electrode array chip for neurotransmitter measurement	
学会等名	発表年月日	発表場所
8th Int. Meeting on Substrate-Integrated MicroElectrodes	2012年07月12日	Reutlingen, Germany

発表者名		発表標題	
鈴木郁郎, 小田原あおい, 福田真生, 天野翔太, 後藤正男		脳神経回路の3次元再構成技術とナノカーボン電極を用いた神経伝達物質計測	
学会等名		発表年月日	発表場所
第51回日本生体医工学会大会		2012年05月11日	福岡国際会議場, 福岡

発表者名		発表標題	
福田真生, 鈴木郁郎, 後藤正男		ナノカーボン微小電極を用いた神経伝達物質のリアルタイム細胞外記録法の開発	
学会等名		発表年月日	発表場所
第51回日本生体医工学会大会		2012年05月10日	福岡国際会議場, 福岡

発表者名		発表標題	
小田原あおい, 鈴木郁郎, 後藤正男		3次元ゲル内に細胞の空間配置を制御した脳回路再構成技術の開発	
学会等名		発表年月日	発表場所
第51回日本生体医工学会大会		2012年05月10日	福岡国際会議場, 福岡

発表者名		発表標題	
アルヒブシ・アマーニ, 鈴木郁郎, 後藤正男		Neuroprotective effects of thymoquinone against amyloid induced toxicity in rat primary neurons	
学会等名		発表年月日	発表場所
第51回日本生体医工学会大会		2012年05月11日	福岡国際会議場, 福岡

発表者名		発表標題	
小田原あおい, 鈴木郁郎, 後藤正男		3次元ゲル内に細胞の空間配置を自在に制御した神経回路の再構成技術の開発	
学会等名		発表年月日	発表場所
第11回日本再生医療学会総会		2012年06月13日	パシフィコ横浜, 横浜

発表者名		発表標題	
鈴木郁郎, 福田真生, 天野翔太, 後藤正男		ナノカーボン電極を用いた神経伝達物質計測	
学会等名		発表年月日	発表場所
平成24年電気学会 電子・情報・システム部門大会		2012年09月06日	弘前大学, 弘前

発表者名		発表標題	
アルビブシ・アマーニ, 鈴木郁郎, 後藤正男		Protective effects of thymoquinone against amyloid induced neurotoxicity in cultured rat primary neurons	
学会等名		発表年月日	発表場所
第35回日本神経科学会		2012年09月20日	名古屋国際会議場, 名古屋

発表者名		発表標題	
福田真生, 鈴木郁郎, 後藤正男		カーボンナノチューブ電極を用いた神経伝達物質の高感度記録法の開発	
学会等名		発表年月日	発表場所
第50回日本生物物理学会		2012年09月23日	名古屋大学, 名古屋

発表者名		発表標題	
天野翔太, 鈴木郁郎, 後藤正男		3次元ネットワーク再構築のための神経組織の脱細胞化条件	
学会等名		発表年月日	発表場所
第50回日本生物物理学会		2012年09月23日	名古屋大学, 名古屋

発表者名		発表標題	
小田原あおい, 鈴木郁郎, 後藤正男		Development of Three-dimensional reconstruction brain circuit controlling the direction of neurite elongation and cell body position	
学会等名		発表年月日	発表場所
第50回日本生物物理学会		2012年09月23日	名古屋大学, 名古屋

発表者名		発表標題	
アルビブシ・アマーニ, 鈴木郁郎, 後藤正男		Protective effects of thymoquinone against amyloid induced neurotoxicity in cultured rat primary neurons	
学会等名		発表年月日	発表場所
第50回日本生物物理学会		2012年09月24日	名古屋大学, 名古屋

発表者名		発表標題	
小田原あおい, 鈴木郁郎, 後藤正男		細胞体位置と神経突起の伸長方向を制御した3D脳回路再構成技術の開発	
学会等名		発表年月日	発表場所
第64回日本生物工学会		2012年10月25日	神戸国際会議場, 神戸

発表者名		発表標題	
福田真生, 鈴木郁郎, 後藤正男		ナノカーボンを用いた神経伝達物質の高感度記録法の開発	
学会等名		発表年月日	発表場所
第64回日本生物工学会		2012年10月26日	神戸国際会議場, 神戸

発表者名		発表標題	
天野翔太, 鈴木郁郎, 後藤正男		脱細胞神経組織を足場とした3次元培養技術の開発	
学会等名		発表年月日	発表場所
第64回日本生物工学会		2012年10月25日	神戸国際会議場, 神戸

発表者名		発表標題	
アルビブシ・アマーニ, 鈴木郁郎, 後藤正男		Neuroprotective effects of thymoquinone against amyloid toxicity on cultured rat primary neurons	
学会等名		発表年月日	発表場所
第64回日本生物工学会		2012年10月23日	神戸国際会議場, 神戸

発表者名		発表標題	
鈴木郁郎, 福田真生, 後藤正男		微小ナノカーボン電極を用いた細胞分泌物のリアルタイム計測技術の開発	
学会等名		発表年月日	発表場所
Life2012(第28回ライフサポート学会大会、第12回日本生活支援工学会大会、日本機械学会福祉工学シンポジウム2012の連合大会)		2012年11月02日	名古屋大学, 名古屋

発表者名	発表標題	
アルビブシアマーニ, 鈴木郁郎, 後藤正男	Thymoquinone protects cultured rat primary neurons against Amyloid induced neurotoxicity	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本生体医工学会 関東支部大会 若手研究会2012	2012年11月17日	東京都市大学, 東京

発表者名	発表標題	
福田真生, 鈴木郁郎, 後藤正男	電気めっきによる CNT 微小多電極アレイ基板の 開発と神経伝達物質計測	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本生体医工学会 関東支部大会 若手研究会2012	2012年11月17日	東京都市大学, 東京

発表者名	発表標題	
小田原あい, 鈴木郁郎, 後藤正男	生体組織を模倣する神経回路の3次元再構成技術の開発	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本生体医工学会 関東支部大会 若手研究会2012	2012年11月17日	東京都市大学, 東京

発表者名	発表標題	
アルビブシアマーニ, 鈴木郁郎, 後藤正男	アミロイド ペプチドが及ぼす神経活動への影響 とチモキノンによる保護効果の検討	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本薬学会 第133年会	2013年03月28日	パシフィコ横浜, 横浜

〔図書〕計(1)件

著者名	出版社		
鈴木郁郎	オーム社		
書名【発行確定】		発行年	総ページ数
「電気工学ハンドブック(第7版)」2編 基礎物理 11章 生体電磁気現象		2 0 1 3	in press

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取得〕計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15. 備考

--