

澤田 和明

豊橋技術科学大学大学院工学研究科  
教授

## 非標識神経伝達物質イメージセンサによる細胞活動可視化システム構築と 脳機能の時空間解析

### § 1. 研究成果の概要

今年度は、これまで実現したバイオイメージセンサの基盤技術を活用し、豊橋技術科学大学グループはシナプスレベルの空間分解能、時間分解能を有する高機能センサを応用グループに向けたブラッシュアップと、乳酸や ATP などの神経伝達物質やカリウムイオン、ナトリウムイオンなどを同時に検出できるチップの作製をおこなった。山梨大学医学部、生理学研究所の応用解析グループは豊橋技術科学大学グループと連携しセンサチップ開発と応用展開を行い、神経細胞活動の非標識イメージングの in-vitro および in-vivo 観察を通して研究開発を進めた。

神経伝達物質イメージセンサ開発と基盤技術の構築を進める豊橋技術科学大学のグループは、昨年度実現した 256×256(6 万)画素、画素ピッチ2ミクロン、時間分解能 0.52msec、ノイズレベル 0.1pH 以下で駆動させることに成功したセンサチップを用いて山梨大学グループと協働し、海馬の微小領域の水素イオン変化の挙動の観察を行った。高精細センサにより海馬の各部のイオン挙動が異なることを見いだした。また、上記 2 ミクロンピッチのイオンイメージセンサを元に刺入型 (in-vivo 型)の作製及び、システムの構築を行い、生理学研究所の応用解析グループに提供した。その他、刺入型 in-vivo センサで水素イオン、カリウムイオン、ナトリウムイオンを同時に観察できるマルチモーダルイオンイメージセンサを作製し、このセンサを生理研チームと協働で、マウスの体制感覚野(S1BF)に刺入し、終濃度 10 $\mu$ M の gabazine の刺激をしたところ、水素イオン、水素イオンの放出が観察されるとともに、ナトリウムイオンの吸収の観察にも成功し、細胞外でのイオンチャネルの動きの可視化に成功した。

脳機能の解剖学的情報と化学的な情報の統合解析システム構築を目指す山梨大学医学部グループは、豊橋技術科学大学チームで新規 lactate センサを用いて、実際の急性海馬スライス標本により神経活動を模倣したグルタミン酸刺激及び電気刺激により、それぞれ[lactate]<sub>o</sub>変化をイメージングすることが出来た。Lactate は、アストロサイトが神経細胞に緊急時のエネルギーとし

て、また特殊な情報を伝える情報伝達物質として、近年注目を集めている。このアストロサイト-神経細胞間での lactate のやりとりは、「lactate シャトル」と呼ばれるが、その実態は不明のままであった。Lactate シャトルを世界で初めて可視化し、その実態を示すことが出来た。

センサの生体応用を目指す生理学研究所グループは生体挿入型センサをマウス脳内に挿入し、本年度は pH 変化と神経活動の時空間的な対応性を理解するため、当初予定していた触刺激による pH 変化の計測に変え、白黒格子を様々な角度に動かすことによって、空間的に異なる神経細胞を刺激し、それに伴う pH 変化の検出を行った。その結果、視覚刺激を行ったところ、格子の移動方向あるいは方位に依存して異なるパターンの局所 pH 変化を捉えることに成功した。また、全過程とプロトンイメージングを同期的に測定する系を確立し、けいれん発作に先んじた大脳皮質および海馬領域全体での顕著なアルカリ化が認められ、けいれん発作前には皮質および海馬において局所的かつ一時的なアルカリ化が数カ所で認められた。この発見は本センサが優れた時空間分解能かつ広域イメージングセンサでなければ得られなかった結果である。このように、高精細かつ高空間分解能をもつ本プロトンイメージングセンサでしか明らかにできない現象を捉えることに成功した。

#### 【代表的な原著論文】

1. Matsuba.S, Kato.R, Okumura.K, Sawada.K, Hattori.T, "Extracellular Bio-imaging of Acetylcholine-stimulated PC12 Cells Using a Calcium and Potassium Multi-ion Image Sensor ", Analytical Sciences, Vol.34, pp.553-558, 2018
2. Kazuaki Sawada and Toshiaki Hattori, "Ion image sensors and their application for visualization of neural activity", Japanese Journal of Applied Physics, Vol.57, No.10, 1002A2-1-11, 2018
3. You-Na Lee, Takeshi Araki, Yasuyuki Kimura, Fumihiro Dasai, Tatsuya Iwata, Kazuhiro Takahashi, Kazuaki Sawada, "High-density 2- $\mu$  m-pitch pH image sensor with high-speed operation up to 1933 fps", IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems, vol.13 Issue2, pp.352-363, 2019.

## § 2. 研究実施体制

### (1)「研究代表者」グループ

① 研究代表者:澤田和明 (豊橋技術科学大学大学院工学研究科 教授)

#### ② 研究項目

- ・神経伝達物質イメージングとマルチ検出機能開発
- ・センサの高感度化と開口率改善
- ・in-vivo 計測用イメージセンサの構築
- ・in-vivo における神経伝達物質イメージング
- ・個々のシナプスの受容体活動と解剖学的情報を解析できるシステムの実証

### (2)「共同研究」グループ

①主たる共同研究者:小泉修一 (山梨大学大学院総合研究部 教授)

#### ② 研究項目

- ・高速・高精細センサによる細胞外 H<sup>+</sup>イメージング法の開発とその脳スライス標本への応用
- ・マルチセンサを用いた細胞外 K<sup>+</sup>及び H<sup>+</sup>イメージングによる、グリアー神経機能連関解明
- ・新規グリア伝達物質 lactate 等のイメージング法の開発

### (3)「共同研究」グループ

①主たる共同研究者:鍋倉淳一 (自然科学研究機構生理学研究所基盤神経科学研究領域 教授)

#### ②研究項目

- ・同期的な pH 変化と神経活動の時空間的な対応性
- ・バレル野における単一ひげ刺激に対応した pH 変化の計測
- ・病態モデルにおける pH 変化の観察