

高密度 CMOS アレイと細胞内刺激による神経ネットワークの可視化

機械情報工学科 4年 03100268 石原裕也

指導教員 高橋宏和 講師

1. 背景

脳には記憶や学習といった高次機能があり、それらの機能は脳を構成する神経ネットワークのもつ可塑性によってもたらされていると考えられている。そのような可塑性を研究するために、分散培養神経細胞ネットワークが用いられている。本研究で用いられる高密度 CMOS アレイ [図 1] は $1.8 \times 1.8 \text{ mm}^2$ に 11,011 個の電極を有する超高密度計測デバイスであり、高い時空間分解能で神経細胞の活動を計測できる [1]。筆者らのグループでは神経細胞の活動の時系列データから細胞間の結合を視覚化する際、スパイク列同士の相互相関などに基づいた統計解析による結合の推定を行ってきた。しかし、結合の判定に必要な閾値の設定などは生理学的に検証されてはいなかった。

2. 目的

そこで本研究は、高密度 CMOS アレイ上の任意の細胞に対し、細胞内電気刺激を与えることでその電気生理学的な結合状態を調べ、統計解析によって推定された結合状態と比較することでその正しさや適切なパラメータ設定などを検証することを究極の目標とする。

細胞内電気刺激を行うためには、高密度 CMOS アレイ上で刺激電極の針先位置を同定し、針を細胞体の位置まで誘導する必要がある。しかし、CMOS アレイは光を透過せず、また光によって計測にノイズが発生するため、光学的に針先位置を同定する方法は採用できない。そこで電気的な方法で針先位置を同定する手法の確立を目的として実験と評価を行った。

3. 実験手法

高密度 CMOS アレイ上で針先位置を電気的に同定する方法として、以下の二つの方法を試みた。

- ① 刺激電極に電位入力を行い、CMOS アレイで計測される刺激電極からの距離に依存するインピーダンスの違い [図 2] による応答の分布から針先位置を同定する方法。
- ② 印加する電圧を上げ、刺激電極表面で電気分解が発生するようにする。電気分解に伴う局所的なイオンの運動によって起こる電位振動 [2] [図 3] を CMOS アレイで計測し、針先位置を同定する方法。

いずれの方法でも、刺激電極にはタングステンワイヤを用い、50 倍の落射型顕微鏡を用いて高密度 CMOS アレイの計測面の角に触れる位置までマイクロマニピュレータで誘導しておおまかな電極位置を限定した。

方法①に基づく実験では、入力波形にサイン波、矩形波を用いた。入力電圧、周波数を変えて応答を計測し、RMS を指標に強度分布を調べた。

方法②に基づく実験では、入力波形に矩形波を用いた。電圧、針先高さをパラメータに計測を行い、計測された局所振動の標準偏差の分布を調べた。

4. 実験結果

方法①の結果では、応答の強度分布は刺激電極からの距離依存なものにはならず、ランダムな分布になってしまった [図 4]。これは、想定していた実験系の回路において、刺激電極と計測電極の距離によるインピーダンスの

差よりも、アレイ上の電極ごとのインピーダンスの差が大きかったためだと考えられる。

方法②の結果では振動強度の距離依存な分布が見られ、その半径は入力電圧、電極高さが大きくなると広がった [図 5, 6]。また、細胞のある状態でも結果に大きな影響はなかった [図 7]。

5. 結論と展望

方法①による同定は困難であったが、方法②による局所分布は観測でき、針先位置の同定は約 $50 \mu\text{m}$ の分解能でできた (電極高さ $0 \mu\text{m}$, 入力電圧 600 mV)。

細胞の大きさが約 $20 \mu\text{m}$ であるので、局所分布の半径を小さくし、分解能をあげる必要がある。そのために、電気分解電極の大きさをより小さくすることが考えられる。また、ガラス電極を用いて電気分解が行えるよう、電気分解用の金属を蒸着させる、などが考えられる。

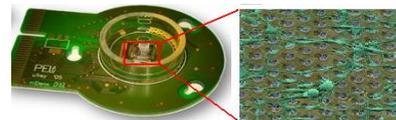


図 1 CMOS アレイ (Bio Engineering Laboratory ETH Zurich)

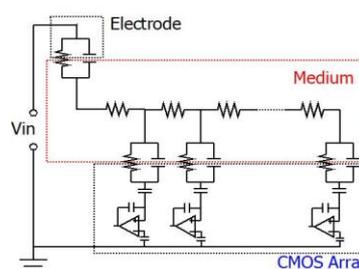


図 2 回路全容

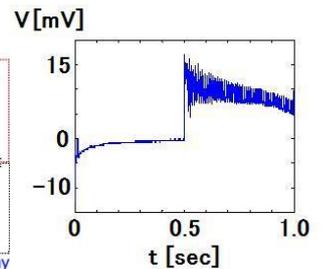


図 3 電気分解に伴う振動

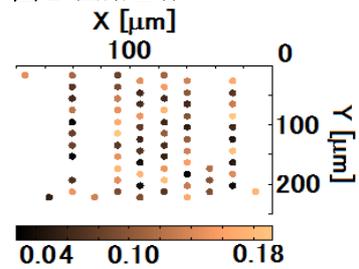


図 4 方法①の結果

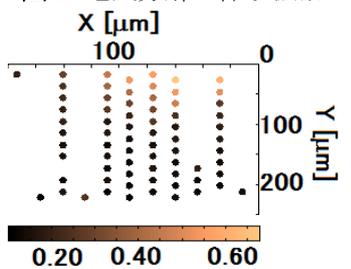


図 5 方法②による距離分布

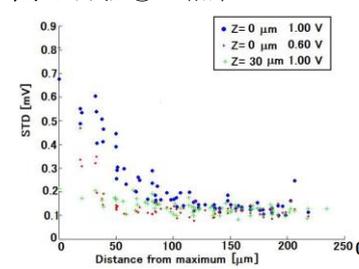


図 6 分布の変化

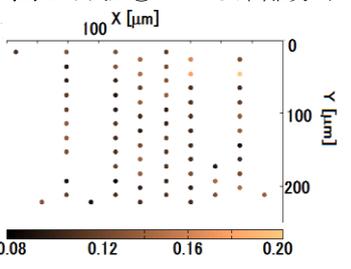


図 7 細胞のある状態

参考文献

- [1] D. J. Bakkum, U. Frey, A. Hierlemann, and H. Takahashi, "Subcellular-resolution electronic recording and stimulation of cultured cortical networks using an 11,011 electrode CMOS array," in *Society for Neuroscience Conference 2009*, Chicago, USA, 10 2009, p. 390.23/HH31.
- [2] J. L. Hudson, and T. T. Tsotsis, "Electrochemical reaction dynamics: a review" *Chemical Engineering Science*, vol. 49, no. 10, pp. 1493-1572, May, 1994