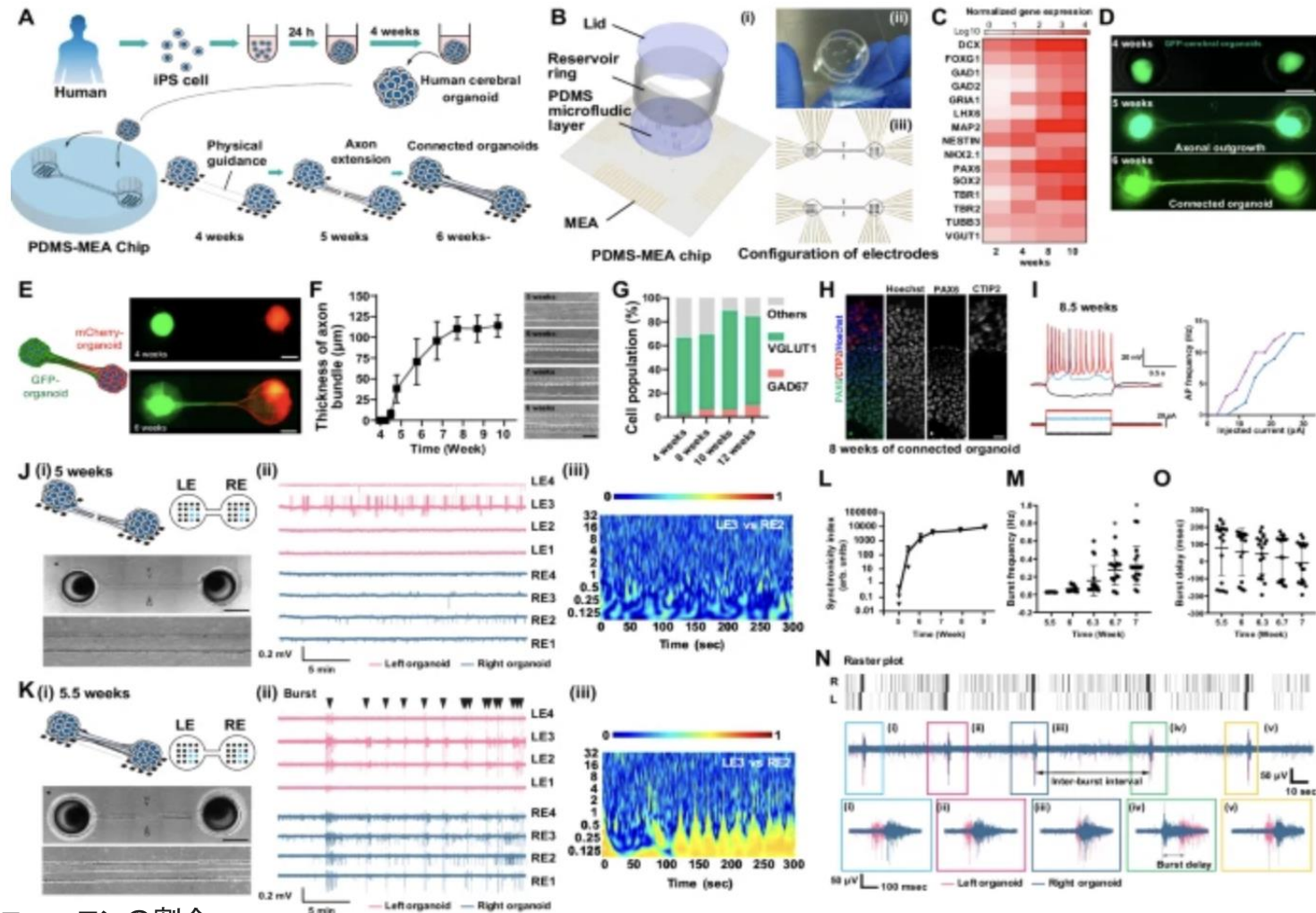
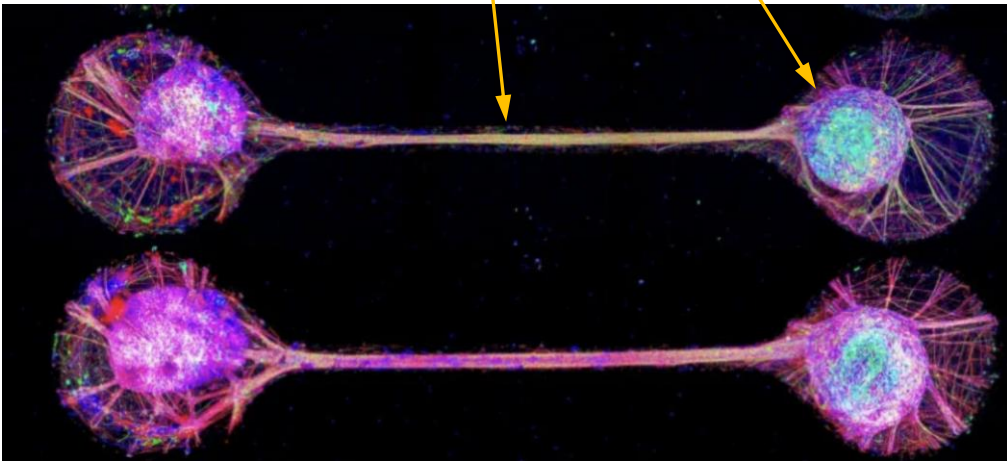


# ヒトの細胞から作った2つの「ミニ脳」こと脳オルガノイドを、神経線維でつなぐ



A 連結された脳オルガノイドの作製

B PDMS-MEA チップの概略図

C 遺伝子発現プロファイル

D 軸索は 1 つのオルガノイドから別のオルガノイドに伸びて軸索束を形成

E GFP 標識および mCherry 標識された脳オルガノイドが連結

F 軸索束の厚さの経時的プロット

G オルガノイド内の興奮性ニューロン、抑制性ニューロン、およびその他のニューロンの割合

H 免疫組織化学分析により、培養 8 週間後の連結されたオルガノイド内に異なる細胞タイプの層

I 分化から 8.5 週間後の接続オルガノイドのニューロンで、過分極および脱分極矩形波電流パルスを入力した際の全細胞パッチクランプ記録

J (i) 5 週間の培養後の接続オルガノイドの代表画像 (ii) 各オルガノイドの下 4 つの代表電極からのフィルタリングされた信号

(iii) 接続オルガノイド内の各オルガノイドの電極からの信号間のウェーブレットコヒーレンス。

K 5.5 週間の培養後の接続オルガノイドの代表画像、フィルタリングされた信号、およびウェーブレットコヒーレンス。(ii) 黒い矢印は、高密度のスパイクに関連する同期したバースト活動 (iii) ウェーブレットコヒーレンスは、2 つの接続オルガノイド間に強い相関

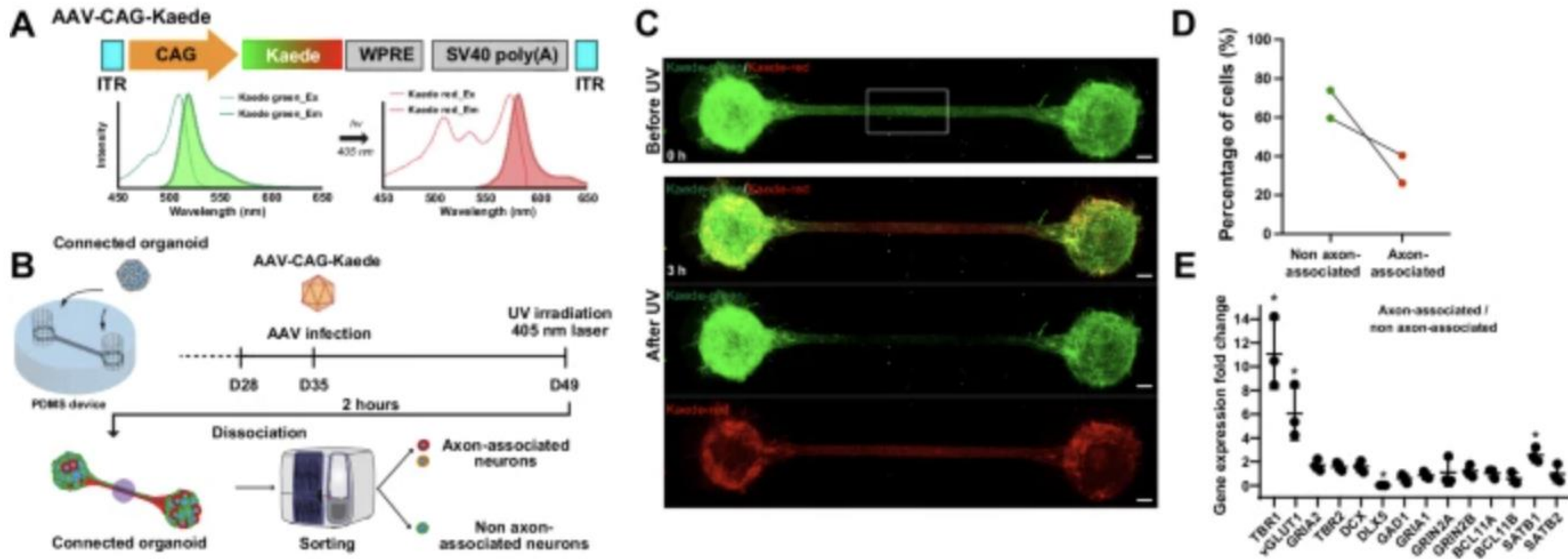
L Mバースト頻度は培養時間とともに有意に増加

N 2つの接続されたオルガノイドの神経活動プロットの拡大図

O 異なる培養期間後のバースト遅延比較による一元配置分散分析

出典: <https://www.nature.com/articles/s41467-024-46787-7>

<https://nazology.kusuguru.co.jp/archives/191483>



**A** pAAVバックボーンプラスミド中のCAGプロモーター下で光変換蛍光タンパク質Kaedeを発現するプラスミド構築物。Kaede緑色蛍光タンパク質は紫外線照射によってKaede赤色蛍光タンパク質に変換される。

**B** 脳オルガノイドをマイクロ流体デバイスに導入してから1週間後にAAV-CAG-Kaedeを感染させた。49日目(培養7週間目)に、軸索束に紫外線(共焦点顕微鏡を備えた405 nmレーザー)を照射した。その後、細胞をセルソーターで選別し、軸索束に関連するニューロン(Kaede-red陽性)と非関連ニューロン(Kaede-red陰性)を同定した。

**C** 紫外線照射前後の連結オルガノイドにおけるKaede光変換。UV照射により、Kaede-greenはKaede-redに急速に変化し、その後Kaede-redは軸索束内で順行性および逆行性に急速に拡散し、軸索束内でKaede-greenとKaede-redのグラデーションを形成した。スケールバー: 150  $\mu\text{m}$ 。

**D** 2つの独立したサンプルからの軸索束関連ニューロンと非関連ニューロンの比率。軸索束関連ニューロンの平均割合は32%であったのに対し、非関連ニューロンの平均割合は68%であった。

**E** 軸索束関連ニューロンと非関連ニューロンにおける遺伝子発現の相対的变化。TBR1およびVGLUT1は、軸索束関連ニューロンで高度に発現していた。 $n = 3$ オルガノイド。 $P = 0.0004$  (GAPDHに対するTBR1)、 $0.0168$  (VGLUT1)、 $8.5 \times 10^{-10}$  (DLX5)、 $0.0117$  (SATB1)。 $* p < 0.05$ 、スチューデント  $t$  検定(両側)。データは平均値  $\pm$  SDとして提示されている。