

平成 27 年度 委託研究開発成果報告書【公開版】

1. 研究開発課題名と研究開発代表者名

事業名	革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト	
研究開発課題名	大脳皮質高次脳機能回路の操作・光計測技術の開発	
機関名	大学共同利用機関法人自然科学研究機構	
研究開発 担当者	所属 役職	基礎生物学研究所 教授
	氏名	松崎 政紀

2. 研究開発成果の内容

①全方位小型 2 色 2 光子顕微鏡の開発

1-1：平成 26 年度に導入した全方位 2 光子顕微鏡において、広視野 10 倍対物レンズを直接駆動する高速ピエゾ装置を導入して 3 次元走査を高速化し、1-2：2000 個@4 Hz のイメージングをマウス大脳で達成し、1-3：マーモセットでの外側部イメージングを実現することを目標とした。

これに対し、1-1：対物レンズを直接駆動する高速ピエゾ装置を導入して 3 次元走査を高速化し、実際にマウスの大脳皮質の 2 光子カルシウムイメージングに成功した。1-2：AAV-R-CaMP を導入したマウス大脳において、1.27 mm x 1.27 mm（水平面）の組織内の 5 平面で 2389 個の神経細胞活動の 4 Hz での 2 光子カルシウムイメージングを達成した。1-3：頭部固定マーモセットでの外側部（外側溝後部一次聴覚野）において、本顕微鏡を傾けることで 2 光子カルシウムイメージングを実現した。従ってすべての目標を達成した。

②仮想空間システムを用いた高次脳機能課題の開発

2-1：モーションキャプチャまたはハプティックデバイスで読み取った多次元データを多細胞神経活動からデコードする解析法を構築し、多次元データからリアルタイムで外部装置の制御を可能とし、2-2：マーモセットに対応可能な仮想空間システムを構築することを目標とした。

これに対し、2-1：頭部固定マウスの前肢運動を 200 Hz の高速 CCD カメラで計測しながら運動野で 2 光子カルシウムイメージングを行い、その後、計測した 574 個の細胞活動から前肢の 2 次元軌道をデコーディングすることに成功した。多次元データからの外部装置のリアルタイム制御は、3-2 と同じ制御系で行うことができるため、3-2 として行い、これを達成した。2-2：頭部固定マーモセットの仮想空間課題の第一ステップとしてレバー操作課題を構築し、この課題をマーモセットが学習できることを確認した。さらに、本課題遂行中に運動野の 2 光子カルシウムイメージングを行うことができた。従ってすべての目標を達成した。

③細胞機能の光操作法と随意操作法の開発

3-1：マウスにおける大脳皮質領野に対する特異的経路へのプローブ発現を最適化し、マーモセットへの適用方法を決定すること、3-2：2 光子イメージングで計測中のマーモセット細胞活動変化からリアルタイムに外部装置制御を可能とし、マウス多細胞活動の 3 次元画像の実時間解析法を確立すること、3-3（平成 27 年 11 月追加項目）：マウス大脳皮質

の広い視野（～3 mm）で細胞活動を5Hz以上の速度で観察することを可能とすることを目標とした。

これに対し、3-1：いくつかのウイルスを用いてマウスでの逆行性または順行性の発現が見られるかを検証したが、強い発現は確認できなかった。3-2：マーモセットでの3次元カルシウムイメージングを成功させたが、マウスの実験系と同じシステムで行っているため、マウス多細胞活動の3次元画像の実時間解析法を確立できれば、マーモセット細胞活動変化からリアルタイムに外部装置制御が可能となる、そこでこの制御系を開発し、マウス運動野の3次元イメージングを行っている状況で、細胞の活動が一定値を越えた場合にのみ報酬を与えることに成功した。3-3：マウス前頭皮質の頭蓋骨窓（直径3 mm）の範囲で神経細胞活動を、目標よりも速い速度で観察可能とした。従って、特異的経路へのプローブ発現の最適化以外の目標はすべて達成した。

④プロジェクトの総合的推進

プロジェクト全体の連携を密としつつ円滑に運営していくため、運営会議や技術検討会の開催等、参画各機関の連携・調整にあたることを目標とした。

これに対して、個別技術課題班長として、革新脳推進会議に2回出席し、革新脳プロジェクト推進委員会に2回出席した。また技術交流を深めるため、同一班の南部班と合同でマーモセットのイメージング・電気計測に関する実験講習会を行い、革新脳実施機関に所属する若手研究者7名が参加し、すべての参加者から役に立ったとの回答を得た。