

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		革新的プロービングによる神経活動の高速3D測定と活動痕跡の長期可視化（神経活動の高速3D測定と活動痕跡の長期可視化に資する光学的手法の創出と改良）
機関名		国立大学法人山梨大学
研究開発 担当者	所属 役職	大学院総合研究部生理学講座 教授
	氏名	喜多村 和郎

2. 研究開発成果の内容

①高速3D測定技術の開発

高速3D観察システムを完成させることを目的として、まず、平成27年度計画通り電気変調レンズによる焦点走査のさらなる高速化を目指した。電気変調レンズの特性を検討した結果、1) 走査速度はピエゾによる焦点走査と変わらないこと、2) 焦点変更により、拡大率・空間分解能が変化してしまうことから、現状ではピエゾによる焦点走査の方が実験に適していると結論した。ピエゾによる焦点走査について、顕微鏡制御プログラムの更新により時間分解能がおおよそ2倍に向上した。

覚醒行動中のマウスにおける多色同時イメージング法を確立した。緑色および赤色のカルシウムセンサーXCaMP-GfおよびXCaMP-Rをそれぞれ体性感覚野の錐体細胞、パルブアルブミン(PV)陽性細胞に発現させて、覚醒下でそれぞれの細胞の活動を同時に捉えることができることを確認した。

②新規プローブの機能評価

計画では、国立大学法人東京大学にて開発された新規プローブX-CaMPシリーズの脳スライスおよびin vivoでの機能評価を行なうとしていたが、脳スライスにおける実験は東京大学で行う体制が整ったため、国立大学法人山梨大学では主にin vivoでの機能評価を行った。XCaMP-GfおよびXCaMP-Rを体性感覚野錐体細胞に発現させた麻酔下マウスにおいて、スパイク記録とカルシウムイメージングの同時計測を行った結果、脳スライスにおいて得られたのと同様、高いS/N比、高い線形性を示すことが確認された。また、in vivoにおいて多色同時イメージングを実現するための条件検討を行い、XCaMP-RとXCaMP-Gfの同時イメージングを可能にした。

③プロジェクトの総合的推進

国立大学法人東京大学との連携を密としつつ円滑に運営していくため、研究成果についての検討会（Skype会議、H27.7.17）、研究代表者尾藤の国立大学法人山梨大学へ

の訪問（H28. 2. 29）、業務協力者（井上昌俊）の国立大学法人山梨大学への派遣による共同実験（H27. 9. 15-16、H27. 12. 9-11）を行った。光遺伝学・細胞活動測定班班長の大学共同利用機関法人自然科学研究機構の松崎との打ち合わせを多数回行い、事業の推進に協力した。