

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 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
(英語) Brain Mapping by Integrated Neurotechnologies for Disease Studies
(Brain/MINDS)

研究開発課題名： (日本語) 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
(英語) Fast 3D recording of neuronal activity and long-term imaging of activity traces through development of innovative probing technologies

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人山梨大学 大学院総合研究部 教授 喜多村和郎
所属 役職 氏名： (英語) Graduate School Department of Interdisciplinary Research, University of Yamanashi, Professor Kazuo Kitamura

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語)
開発課題名： (英語)

研究開発分担者 (日本語)
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：国立大学法人東京大学大学院医学系研究科 教授 尾藤 晴彦 総括研究報告を参照。

尾藤晴彦教授 (国立大学法人東京大学大学院医学系研究科) のグループと共に、高速・高感度な XCaMP の有用性を示す検証実験として、高頻度で発火することが知られているパルブアルブミン (PV) 陽性細胞の活動解析を行った。PV-Cre マウスと AAV-CAG-DIO-XCaMP-Gf を用いて、PV 陽性細胞に XCaMP-Gf を発現させて、200Hz の 2 光子高速 Ca^{2+} イメージングとスパイク同時記録を行った。イメージングにより測定した Ca^{2+} シグナルから細胞の発火頻度を推定する数学的な手法を用いて求めた発火頻度を、スパイク記録により求めた実際の発火頻度と比較したところ、極めて相関が高いことが明らかとなり、高速・高感度な XCaMP によって高頻度発火を精度よく測定できること

を示した。XCaMP-G および XCaMP-R を用いた多色 2 光子高速 Ca^{2+} イメージングが頭部固定下の覚醒行動中のマウスで可能であることを示した。また、XCaMP を小脳プルキンエ細胞に発現させることで、登上線維応答を高速・高感度に検出できることを確認した。

高速 3 D 観察システムに、超音波変調レンズ (TAG レンズ) を導入することで、焦点位置を高速で走査し、深さ方向に 100 μm 程度に存在する細胞または樹状突起スパインを同時に観察することが可能な顕微鏡を構築した。

To demonstrate superiority and usefulness of fast and sensitive calcium indicator, XCaMP, we investigated firing dynamics of fast-spiking parvalbumin (PV) interneurons expressing XCaMP-Gf. Adeno associated virus encoding DIO-XCaMP-Gf was injected into somatosensory cortex of PV-Cre mouse, and we performed simultaneous high-speed (200Hz) Ca^{2+} imaging and spike recording from PV neurons. Spike frequency of PV neurons inferred from XCaMP-Gf fluorescence transients was well correlated with recorded spike frequency, indicating that XCaMP is suitable for decoding spiking activity of fast-spiking neurons. We also showed that high-speed multicolor two-photon imaging can be implemented in a head-fixed, awake behaving mouse by using XCaMP-G and XCaMP-R. XCaMP could also reliably and efficiently detect climbing fiber responses of cerebellar Purkinje cells.

We introduced an ultrasound lens (TAG lens) for fast scanning of the focal plane of a two-photon microscope. We achieved the extended depth of focus imaging of neurons and dendritic spines distributed along the cortical depth of 100 μm in vivo.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 1 件)

1. Dendritic spikes in sensory perception. Manita S, Miyakawa H, Kitamura K, Murayama M. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2017, 11:29.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Cerebellar lobules receive spatiotemporally specific inputs from the cerebral cortex. 口頭, Choo MJ, Hira R, Matsuzaki M, Kano M, Kitamura K. 第 39 回日本神経科学大会, 2016/7/22, 国内.
2. Hyperacuity Bayesian technique to enhance temporal resolution of two-photon recording of complex spikes of cerebellar Purkinje cells. 口頭, Hoang HT, Yamashita O, Tokuda IT, Kitamura K, Sato M, Kawato M, Toyama K. 第 39 回日本神経科学大会, 2016/7/22, 国内.
3. 脳機能の 2 光子イメージング. 口頭, 喜多村和郎. BioOpto Japan 2016, 2016/9/15, 国内.
4. 2 光子イメージングによる小脳回路研究: 発達から運動機能まで, 口頭, 喜多村和郎, 第 63 回中部日本生理学会, 2016/11/4, 国内.
5. Functional differences in climbing fiber inputs to distinct cerebellar stripes during goal-directed behavior. ポスター, Tsutsumi S, Hidaka N, Isomura Y, Matsuzaki M, Sakimura K, Kano M, Kitamura K. *Neuroscience 2016*, 2016/11/15, 国外.
6. Representation of cerebellar climbing fiber signals during goal-directed behavior and

learning. 口頭, Kitamura K. NIPS International Workshop “Toward elucidation of memory engram”, 2016/12/7, 国内.

7. A novel method for assessment of reaching and grasping movements in head-fixed mice. ポスター, Manita S, Ikezoe K, Kitamura K. 第94回日本生理学大会, 2017/3/28, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし