

# ゼブラフィッシュ稚魚の 脳活動のリアルタイム観察

共焦点スキャナユニットCSUシリーズ

## はじめに

脳が外界からの感覚情報をどのように知覚しているのかを理解するためには、生体内での個々の神経細胞（ニューロン）の活動をリアルタイムで、かつ脳の広範囲を同時観察することが要求されます。そのためには高空間分解能・高時間分解能かつ広視野でのイメージングを可能とする装置が必要です。

今回は共焦点スキャナユニットCSU-W1とカルシウムセンサー GCaMPを用いることにより、ゼブラフィッシュ稚魚の脳内の活動を非常に高い分解能でイメージングすることができました。

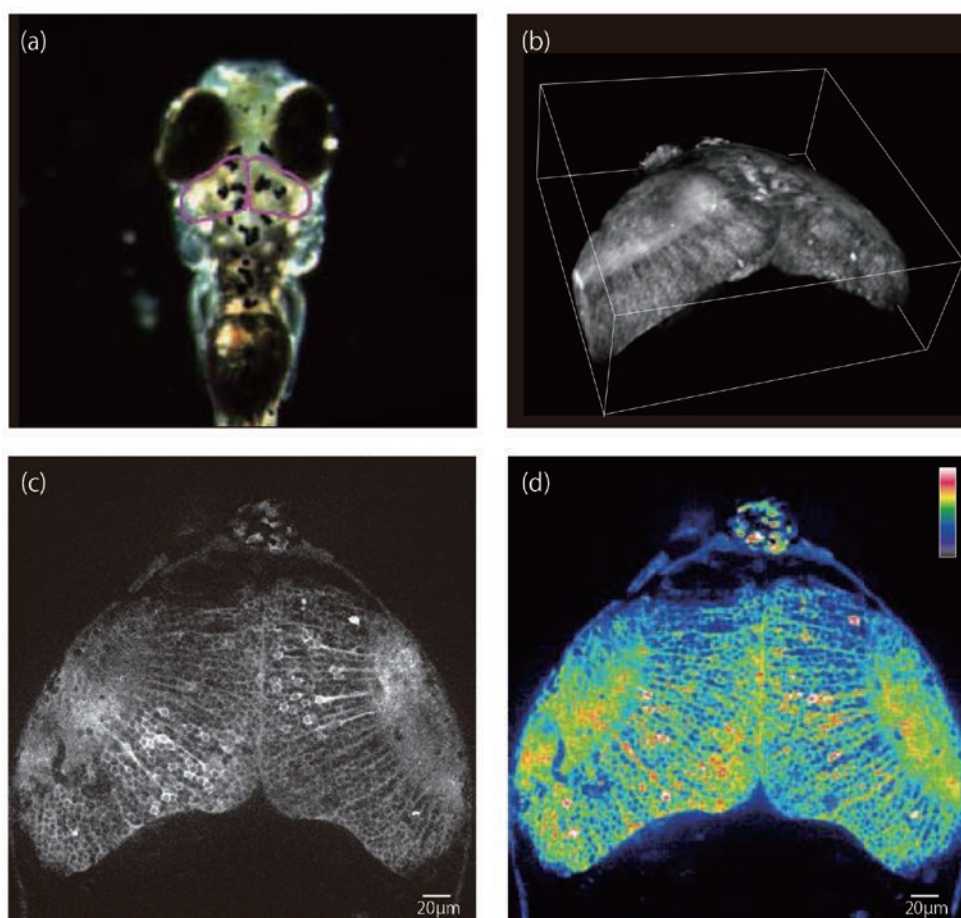


図1 ゼブラフィッシュ稚魚の視蓋<sup>\*1</sup>の神経活動のリアルタイム観察

- (a) 受精後5日目のゼブラフィッシュ稚魚。視蓋部は 
- (b) GCaMPを発現させた脳部位（視蓋領域）の3D画像
- (c) GCaMP蛍光イメージング。タイムラプスムービーからの1フレームを抜粋
- (d) タイムラプスを時間で重ね合わせ。カルシウム反応が強くおきた箇所を赤く表示

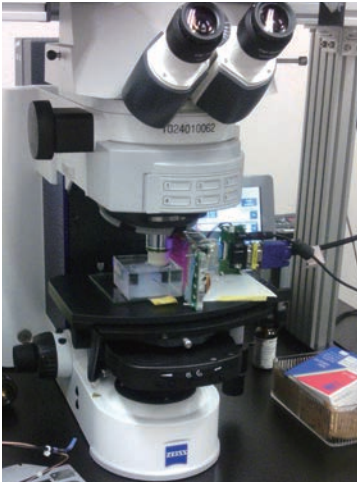
データご提供：国立遺伝学研究所 初期発生研究部門 教授 川上 浩一 先生、助教 武藤 彩先生

参考文献：Muto et al., Real-Time Visualization of Neuronal Activity during Perception, Current Biology 23(4):307-311

\*1 視蓋：中脳の一部で、魚類では視覚情報処理や運動に関与する

実験手順

脳の視蓋領域にカルシウムセンサー GCaMPを発現させたゼブラフィッシュの稚魚（受精後3日目～5日目）をアガロース中に固定し、視蓋ニューロンの自発的な神経活動および視覚刺激依存的な神経活動をイメージングしました。

|      |                                                                                    |                                                                                    |
|------|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| サンプル | Gal4-UASシステム <sup>*2</sup> を用いたUAS:GCaMP7aゼブラフィッシュ（受精後3～5日の稚魚）                     |                                                                                    |
| システム |  |  |
|      |                                                                                    | ゼブラフィッシュがアガロース中に固定                                                                 |
|      |                                                                                    | 共焦点ユニット                                                                            |
|      |                                                                                    | CSU-W1 (ピンホール: 50μm)                                                               |
|      |                                                                                    | レーザー                                                                               |
|      |                                                                                    | 488nm (固体レーザー)                                                                     |
|      |                                                                                    | 顕微鏡                                                                                |
|      |                                                                                    | Axio Imager (Zeiss)                                                                |
|      |                                                                                    | カメラ                                                                                |
|      |                                                                                    | iXon 888 (Andor)                                                                   |
|      |                                                                                    | 対物レンズ                                                                              |
|      |                                                                                    | W Plan-Apochromat 40x<br>W N-Achroplan 20x                                         |
|      |                                                                                    | ソフト                                                                                |
|      |                                                                                    | Metamorph                                                                          |
| 撮影条件 | 視蓋部（深さ180μm）を100msec露光で600枚を連続撮影 トータル152秒（3.94fps）                                 |                                                                                    |

結果と考察

共焦点スキャナユニットCSU-W1を用いるとゼブラフィッシュ稚魚脳の広い範囲が単一視野内に収まるため、高い空間解像度で視蓋の個々の神経細胞の活動を同時観察でき（図1）、与えた視覚刺激に特異的に反応するニューロンを同定できました。また、脳深部（深さ300μm）からの神経シグナルも観察可能であることがわかりました。

まとめ

生体脳の神経細胞集団のネットワーク活動を可視化することにより、神経細胞同士の機能的結合を調べることが可能になります。カルシウムセンサーを視蓋のみならず他の領域でも発現させれば、脳の領域をまたぐような機能的神経回路の解析においても共焦点スキャナユニットCSU-W1が威力を発揮すると考えられます。また、より高速なカメラを選択することによりさらに時間分解能を上げることができます。

<sup>\*2</sup> Gal4-UAS システム：酵母の転写因子 GAL4 とその標的配列である UAS を使った転写調節機構で、導入遺伝子を特定の部位で発現させることができる

横河電機株式会社

〒180-8750 東京都武蔵野市中町 2-9-32  
E-mail : CSU@CSV.yokogawa.co.jp  
URL : <https://www.yokogawa.co.jp/solutions/products-and-services/life-science/spinning-disk-confocal/>



記載内容は、お断りなく変更することがありますのでご了承ください。  
本文中に使用されている会社名、団体名、商品名およびロゴ等は、各社または各団体の登録商標または商標です。  
All Rights Reserved. Copyright © 2009, Yokogawa Electric Corporation.

[Ed:02d]