

光の特性を活用した生命機能の時空間制御技術の開発と応用
2017 年度採択研究代表者

2021 年度 年次報告書

和氣 弘明

名古屋大学 大学院医学系研究科
教授

ホログラム光刺激による神経回路再編の人為的創出

§ 1. 研究成果の概要

本年度は和氣グループおよび的場グループで共にまずホログラフィック刺激の最適化を図り、細胞数 100-200 個までの 60 Hz 刺激を可能にし、500 μm *500 μm の画角で 100 個の神経細胞活動を 100 Hz で、150 μm *150 μm の画角を 189 Hz で、100 μm *100 μm の画角で 380 Hz、20 μm *20 μm の画角で 600 Hz の画像取得、細胞記録を計測することに成功している。これは当初の予定されていた刺激スペックを超えるものである。さらにホログラフィック光刺激及びイメージング一体化システムにおいて、ホログラフィック 2 光子 3 次元光刺激技術の向上と、強度輸送方程式を用いた 3 次元蛍光イメージングシステムを導入し、in vivo での細胞光刺激及び観察を和氣グループおよび的場グループの共同で実施した。ホログラフィック 2 光子 3 次元光刺激技術では奥行き範囲 447 μm で 3 平面のスポットを形成し、直径 10 μm の蛍光ビーズを選択的に照射することに成功した。一体化システムにおいて可変焦点レンズを用いた強度輸送方程式による 3 次元蛍光イメージングシステムを導入し、生きたマウスの脳表面における血管の 3 次元蛍光イメージングを実施した。また平等グループ、和氣グループ、的場グループで平等グループが開発したレーザー材料に Nd:YVO₄、光スイッチ材料に SOC (Saturable Output Coupler) を用いた共振器長 210 μm のマイクロチップレーザーと小型のレーザー増幅器を組み合わせた Master Oscillator Power Amplifier (マイクロ MOPA) 構成を用いて、生体への適用を図り、刺激を行うことができた。しかしながらパワーを上げる必要があるため、平均出力 0.5W では不足することがわかった。そこで、繰り返し周波数を上げて平均出力を向上することを試みた。そのために SOC の変調深さを最適化したところ、繰り返し周波数を最大で 0.3 MHz から 3 MHz まで向上でき、平均出力を >1W にまで高めることに成功した。また、安定化のための光アイソレータを組み込みながらも実装面積で半分と、安定性向上と小型化が図れた。これらの系を生体応用し、和氣グループが痛み形成のメカニズム、自閉症・統合失調症の局所神経回路解析、トランスクリプトーム情報の抽出などを進めている。またそれらをもとに感覚を人為的に創出し、感覚学習に対する寄与を検討している。

§ 2. 研究実施体制

(1) 和氣グループ

- ① 研究代表者: 和氣 弘明 (名古屋大学 大学院医学系研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・2光子顕微鏡と一体化したホログラフィックシステムの開発およびその最適化
 - ・疑似感覚を創成するための感覚学習過程の神経回路基盤
 - ・機械学習を用いた細胞抽出法の改良

(2) 平等グループ

- ① 主たる共同研究者: 平等 拓範 (自然科学研究機構 分子科学研究所 特任教授)
- ② 研究項目
 - ・ジャイアントパルス・マイクロチップレーザーの生体応用への最適化

(3) 鍋倉グループ

- ① 主たる共同研究者: 鍋倉 淳一 (自然科学研究機構 生理学研究所 所長)
- ② 研究項目
 - ・脳スライスの系において神経・グリア細胞の多点刺激による神経回路の人為的操作
 - ・in vivo での人為的神経回路再編の創出

(4) 的場グループ

- ① 主たる共同研究者: 的場 修 (神戸大学 システム情報学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・特定された細胞へのホログラフィック2光子光刺激技術の改良
 - ・ホログラフィック3次元光刺激技術の改良
 - ・一体化3次元蛍光イメージングシステムの構築と in vivo 実験
 - ・収差補正機能による3次元生細胞群への高品位光刺激

【代表的な原著論文情報】

- 1) Murayama M, **Wake H.** Lighting up cosmic neuronal networks with transformative in vivo calcium imaging. *Neurosci Res.* 2022 Apr 20: S0168-0102(22)00114-6.
DOI: 10.1016/j.neures.2022.04.007. Online ahead of print. PMID: 35460729
- 2) Quan X, Kato D, Daria V, Matoba O, Wake H*. *Holographic microscope and its biological application.* *Neurosci Res.* 2021, Nov 2: S01680102(21)00220-0.
DOI: 10.1016/j.neures.2021.10.012.
- 3) Okada T, Kato D, Nomura Y, Obata N, Quan X, Morinaga A, Yano H, Guo Z, Aoyama Y, Tachibana Y, Moorhouse AJ, Matoba O, Takiguchi T, Mizobuchi S and Wake H*. *Pain induces stable, active microcircuits in the somatosensory cortex that provide a new*

therapeutic target. *Sci Adv*, 2021 Mar 19;7(12):eabd8261. DOI: 10.1126/sciadv.abd8261. (査読有り)

- 4) “Giant pulse Nd:YVO₄ microchip MOPA for two-photon excitation microscopy”, The 69th JSAP Spring Meeting, The Japan Society of Applied Physics, Sagamihara Campus, Aoyama Gakuin University & Online, March 22-26, 25p-D215-3, 2022.
- 5) “Quantitative Dynamic Evolution of Physiological Parameters of RBC by Highly Stable Digital Holographic Microscopy,” *Optics and Lasers in Engineering* Vol.151, 106887 (2022). DOI: 10.1016/j.optlaseng.2021.106887.