

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

2020 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

本課題では、ホログラフィ技術を搭載した計測・操作一体型の顕微鏡を開発し、2光子顕微鏡による高次脳機能を担う中枢神経系細胞活動の検出とその操作を目指す。本年度は、1) 2光子顕微鏡をホログラフィック刺激と一体化した顕微鏡の技術改良、2) ホログラフィック3次元光刺激技術による細胞活動制御と、3次元蛍光デジタルホログラフィシステムによる細胞応答観察の2つを一体化する条件検討、3) デジタルホログラフィックを用いた神経科学的研究への応用を推進した。

1) 和氣チームと的場チームで開発した2光子ホログラフィック顕微鏡を用いて、均質な光刺激を行なうための位相最適化法を搭載した。さらに刺激レーザー光の形状を最適化し、ドーナツ型の形状の刺激光の形状の刺激光で、Gaussian型と同等の神経細胞応答が得られることをカルシウムイメージングおよび電気生理学的な検証で明らかにした(国際共同研究)。この最適化した刺激光を用いて、生体に応用し、50-100個の細胞を30Hzで刺激することが可能となっている。2年間で150個の細胞を60Hzで刺激することを目指す。

2) 神経細胞・グリア細胞の3次元光操作・観測一体化システムを構築した。3次元蛍光観察については、コンピューショナルイメージング手法により、マウス脳スライスの神経細胞を可視化した。さらに2光子ホログラフィック照射によって得られる蛍光画像をCCDカメラで取得し、時間分解能の高い細胞応答を記録することに成功した。

3) 生体への応用にあたって、本年度は慢性疼痛モデルを用いた局所機能回路機能的結合の評価を行うことに成功した(Okada et al., Sci Adv, 2021)。現在、異種感覚可塑性への応用及びホログラフィック刺激によるカラーバーコード付けを用いたシングルセルトランスクリプトーム法の開発を継続する。

§ 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、教授)
- 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 研究代表者: 的場 修 (神戸大学 先端融合研究環、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次元光刺激技術の創成
 - ・ホログラフィック3次元光刺激技術の創成
 - ・3次元蛍光デジタルホログラフィシステムの構築とターゲット検出
 - ・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) “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.
- 2) “Multimodal Microscopy: Fast Acquisition of Quantitative Phase and Fluorescence Imaging in 3D Space”, *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electronics*, Volume: 27, 6800911 (2021). DOI: 10.1109/JSTQE.2020.3038403
- 3) “Digital holographic multimodal cross-sectional fluorescence and quantitative phase imaging system”, *Sci. Rep.*, Vol.10, 7580 (2020). DOI: 10.1038/s41598-020-64028-x
- 4) “Single-shot common-path off-axis digital holography: applications in bioimaging and optical metrology [Invited].” *Appl. Opt.* Vol. 60, pp. A195-A204 (2021). DOI: 10.1364/AO.404208
- 5) “Negative feedback control of neuronal activity by microglia”, *Nature*. 2020 Sep 30. DOI: 10.1038/s41586-020-2777-8. PMID: 32999463.