

## Egér elsődleges látókérgi sejtjeinek két-foton mikroszkópiás vizsgálata genetikailag kódolt Ca<sup>2+</sup> indikátorok segítségével

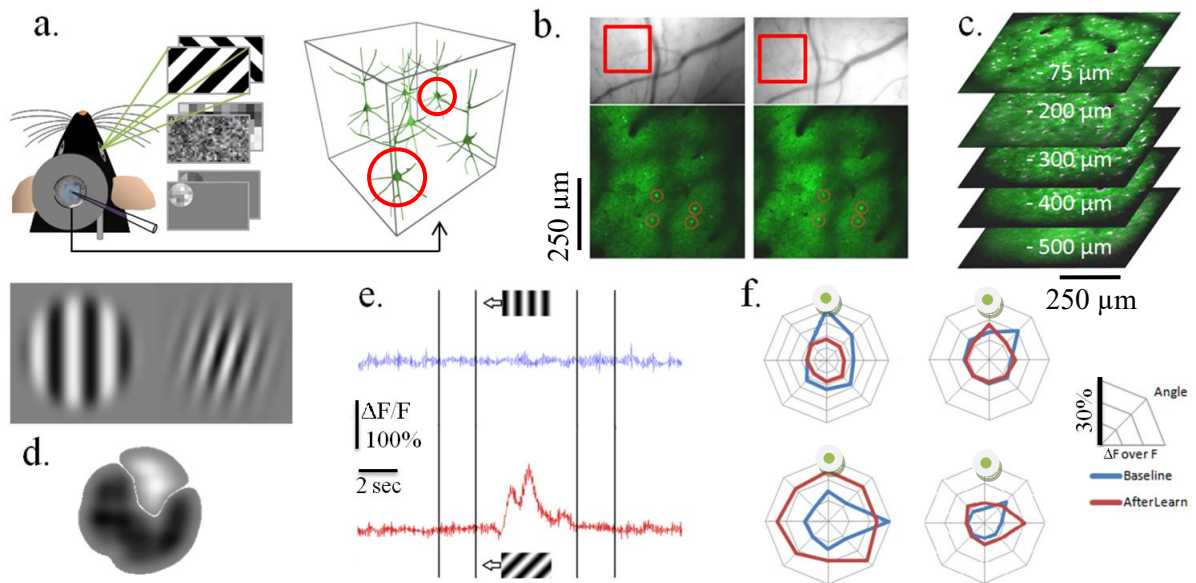
Mezey Dávid<sup>1,2</sup>, Judák Linda<sup>2</sup>, Szalay Gergely<sup>2</sup>, Tompa Tamás<sup>2,3</sup>, Rózsa J. Balázs<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Budapest, <sup>2</sup>MTA KOKI, Budapest, <sup>3</sup>Miskolci Egyetem, Miskolc

Az idegrendszer egy komplex és dinamikusan változó biológiai rendszer. Működésének megértéséhez számos módszert fejlesztettek ki annak függvényében, hogy mekkora kiterjedésű és milyen kinetikával jellemezhető a vizsgálni kívánt jelenség. A paletta térbeli skálája az egyes szinapszisok (100-500 nm) vizsgálatától a kiterjedt neurális hálózatokig terjed (1-30 mm), még időben az ioncsatornák nyílási idejétől (<ms) a hosszú távú idegi plaszticitás tanulmányozásáig (néhány nap). A két-foton effektusra épülő mikroszkópiai eljárások a fenti jelenségek nagy részének vizsgálatára alkalmasak, a megfelelő indikátormolekulák és megfelelő pásztázási technikák használata mellett.

A vizuális információk idegrendszeri kódolásának és feldolgozásának vizsgálata olyan kutatási terület, mely a 60-as évektől kezdve évről évre egyre dinamikusabban fejlődik részben a két-foton mikroszkópia előnyös tulajdonságainak köszönhetően. A módszer megfelelő használatával nem csak a látókérgi idegsejtek és sejtkompartimentumok funkcionális vizsgálatára van lehetőségünk, de nagy kiterjedésű idegszövet sejtjeinek populációs szintű vizsgálatára is, akár *in vivo* körülmények között.

Méréseink célja egyrészt a szakirodalom által eddig nem vizsgált, általunk generált vizuális stimulációkra mutatott reakciók feltérképezése egér elsődleges látókérgi (VI) sejtjeiben, genetikailag kódolt kalcium indikátor (*GCaMP6*) használatával [1], másrészt az orientáció- és direkciószelektivitás esetleges változásának vizsgálata vizuális információhoz kötött tanulási feladatok során, az általunk fejlesztett beszoktatási rendszerekkel.

Méréseinkhez 2D galvanometrikus és rezonáns, valamint ultragyors 3D akusztóoptikus (AO) két-foton mikroszkópiai eljárásokat is használtunk [2] melyekkel lehetőségünk volt egyrészt idegsejtek adott képi aspektusra való érzékenységének precíz térképezésére, másrészt sejtpopuláció szintű vizsgálatásra is. Az architektúrától függően sok száz sejtet tudunk nagy 3D térfogattól szimultán vizsgálni, vagy nagy kortikális mélységekben elhelyezkedő (800 μm) 2D sík sejtjeinek aktivitását mérni, mozgáskorrekció lehetősége mellett.



**Figure 1.** **a.** Vizuális stimulációval egybekötött két-foton mikroszkópiás mérés sematikus modellje **b.** Ugyanazon képpalkotási réteg és hely megtalálása egér V1 régiójában 5 nap elteltével **c.** Különböző mélységekben készült két-foton mikroszkópos képből alkotott Z-stack (részleges) **d.** Modellezett és a mérésekből adódó V1 kortikális sejt u.n. vizuális receptív mezeje **e.** Orientáció- és direkciószelektív sejt aktivitásméréséből adódó  $Ca^{2+}$  görbék **f.** Elsődleges vizuális kéregbeli sejtek ( $n=4$ ) orientáció- és direkciószelektivitási gráfjai vizuális ingerhez (Drifting grating,  $0^\circ$ (zöld pont) és  $315^\circ$  között  $45^\circ$ -onként) kötött tanulás előtt (kék) és után (piros)

- [1] T. Chen, T. Wardill, Y. Sun, S. Pulver, S. Renninger, A. Baohan, E. Schreier, R. Kerr, M. Orger, V. Jayaraman, L. Looger, K. Svoboda and D. Kim, 'Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity', *Nature*, vol. 499, no. 7458, pp. 295-300, 2013.
- [2] G. Katona, G. Szalay, P. Maák, A. Kaszás, M. Veress, D. Hillier, B. Chiovini, E. Vizi, B. Roska and B. Rózsa, 'Fast two-photon in vivo imaging with three-dimensional random-access scanning in large tissue volumes', *Nature Methods*, vol. 9, no. 2, pp. 201-208, 2012.