

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ И ШКОЛЫ

ПРИМЕНЕНИЕ МИНИСКОПА ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА

© 2020 г. Е. И. Герасимов^{1,*}, А. И. Ерофеев¹, С. А. Пушкарева¹,
Джао Цянь¹, О. Л. Власова¹, И. Б. Безпрозванный^{1,2}

¹ Лаборатория молекулярной нейродегенерации Санкт-Петербургского политехнического университета
Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

² Отделение физиологии Юго-Западного медицинского центра Университета Техаса, Даллас, Техас, США
*e-mail: evgeniigerasimov1997@gmail.com

DOI: 10.31857/S004445292007044X

В настоящее время актуальной задачей в нейробиологии становится визуализация не только морфологии нейронов, но и нейрональной активности *in vivo*, что достигается с помощью специальных сенсоров, которые флуоресцируют при изменении концентрации различных ионов, например, кальция. Многие современные методы флуоресцентной микроскопии позволяют регистрировать активность нейронов *in vivo*, однако их применение имеет ряд серьёзных ограничений, а именно: необходимость фиксации экспериментального животного, низкую скорость сканирования, сложность и дороговизну использования. Оригинальным подходом, позволившим решить некоторые из перечисленных проблем, стало использование однофотонных миниатюрных флуоресцентных микроскопов — минископов (Miniscope). Они имеют небольшие размеры при хорошем разрешении, размещаются на голове животного и не мешают его свободному движению, что делает возможным их использование в ходе проведения поведенческих тестов.

Для оценки изменения активности нейронов с помощью Miniscope используются различные индикаторы, например, генетически кодируемый кальциевый индикатор GCaMP, сенсоры потенции-

ала на мембране и др., что делает данный метод перспективным в изучении нейрональной активности. Чтобы понять связь между активностью нейронных цепей и поведением, можно использовать оптогенетику и одновременную регистрацию кальциевого сигнала в мозге свободно перемещающихся животных.

В Лаборатории Молекулярной Нейродегенерации (ЛМН) СПбПУ проведены работы по освоению методики имплантации Miniscope для визуализации нейронов гиппокампа *in vivo*. В ходе их выполнения были решены следующие задачи:

- 1) инжектирован вирус (AAV2-GFP) при помощи стереотаксической операции;
- 2) имплантирована GRIN-линза (градиентная линза) для фокусировки флуоресценции с поля нейронов;
- 3) закреплён Miniscope на неподвижное основание.

Был также оптимизирован алгоритм проведения стереотаксических операций по введению вируса (AAV2-GFP). Для проверки точности введения вируса в гиппокамп были сделаны снимки на конфокальном микроскопе (рис. 1а, 1б) во время стереотаксической операции проводилось удаление слоев мозга до косо́го хода волокон

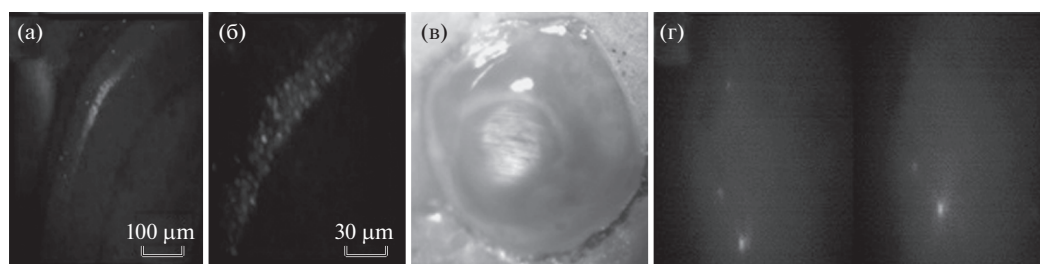


Рис. 1. (а, б) — Визуализация нейронов CA1 области гиппокампа, экспрессирующих GFP в срезах (а — увеличение 10×, б — увеличение 40×), (в) — ход нейронных волокон в гиппокампальных областях, (г) — *in vivo* снимки области гиппокампа мыши с помощью Miniscope.

гиппокамп (рис. 1в). После имплантации Miniscope были визуализированы нейроны гиппокампальной области, экспрессирующие GFP (рис. 1г). Таким образом, методика имплантации Miniscope с последующей визуализацией активности нейронов гиппокамп в ЛМН поставлена. В дальнейшем предполагается ее использовать для проведения кальциевого имиджинга *in vivo* в поведенческих тестах на мышах-

моделях нейродегенеративных заболеваний, в том числе, до и после оптогенетической стимуляции клеток астроглии.

Финансирование работы: при поддержке Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого в рамках программы повышения конкурентоспособности 5-100, РНФ 20-65-46004.