

【目的】 高次脳機能解明のためのアプローチとして、2光子励起顕微鏡を用いた遺伝子にコードされたカルシウムセンサー (Genetically Encoded Calcium Indicator, GECI) による生体 (*in vivo*) 活動イメージングが急速な発展を遂げている。ところが、従来のカルシウムイメージング法では、主として興奮性ニューロンあるいは抑制性ニューロンの単色活動イメージングしかなされていなかった。また、記憶を制御する神経回路機構を解明するためには、長期間にわたって活動イメージングが可能な技術を確立する必要があった。本研究では、G-CaMP9a ノックインマウスが記憶メカニズムを解析する際に必要である長期的なイメージングに適用可能であるか、その評価を行った。次に、赤色カルシウムセンサーと一緒に用いることで2色 (緑と赤) の同時カルシウムイメージングを行うための方法の確立を行った。

【方法、結果】 本研究では、高速かつ高感度な緑色カルシウムセンサーG-CaMP9a を Rosa26 遺伝子座にノックインした遺伝子改変マウス (R26-pCAG-FSF-GCaMP9a) が、長期的なイメージングに適用可能であるか評価を行った。その結果、G-CaMP9a ノックインマウスは、5ヶ月齢でもニューロンの自発発火ならびに感覚刺激 (ヒゲ刺激) に対する神経活動をモニター可能であった。カルシウムセンサーの蛍光輝度、自発発火における蛍光変化の大きさ、蛍光減衰の時定数に1~5ヶ月齢で有意な差は見られなかったこと、さらに、2光子レーザーで30分間励起を続けても、G-CaMP9a の蛍光の褪色は見られなかったことから、G-CaMP9a ノックインマウスは長期イメージングにも有用であることが分かった。次に、赤色カルシウムセンサーと一緒に用いることで2色 (緑と赤) の同時カルシウムイメージングを行なうための方法の確立を行った。抑制性ニューロン選択的にG-CaMP9a を発現させたトランスジェニックマウス (Dlx5/6-Flpe;G-CaMP-9a) にAAVを用いて赤色カルシウムセンサー (XCaMP-R) を興奮性ニューロンに発現させることで、興奮性ニューロンと抑制性ニューロンの同時イメージングに成功した。

G-CaMP9a ノックインマウスを用いた *in vivo* カルシウムイメージング

