

## 高出力利得スイッチング LD ベース高機能光源による 生体マウス海馬の *in vivo* 2 光子イメージング

*in vivo* two-photon imaging of mouse hippocampal neurons with a light source based on  
high peak power gain-switched laser diode

北海道大学 電子研<sup>1</sup>, 東北大学 未来研<sup>2</sup>, 東北大学 多元研<sup>3</sup>, JST CREST<sup>4</sup>  
○川上良介<sup>1,4</sup>, 澤田和明<sup>1</sup>, 草間裕太<sup>2</sup>, 房宜澁<sup>2</sup>, 小澤祐市<sup>3,4</sup>, 佐藤俊一<sup>3,4</sup>,  
横山弘之<sup>2,4</sup>, 根本知己<sup>1,4</sup>

RIES, Hokkaido Univ.<sup>1</sup>, NICHe, Tohoku Univ.<sup>2</sup>, IMRAM, Tohoku Univ.<sup>3</sup>, JST CREST<sup>4</sup>  
○R. Kawakami<sup>1,4</sup>, K. Sawada<sup>1</sup>, Y. Kusama<sup>2</sup>, Yi-Cheng Fang<sup>2</sup>, Y. Kozawa<sup>3,4</sup>, S. Sato<sup>3,4</sup>,  
H. Yokoyama<sup>2,4</sup>, T. Nemoto<sup>1,4</sup>

E-mail: rkawascb@es.hokudai.ac.jp

はじめに 脳機能を解明するためには生きた個体における個々の神経細胞の挙動から明らかにすることが重要である。近年、2光子蛍光顕微鏡法 (TPM) を用いることで非侵襲的にマウス生体脳を高精細に可視化することが可能になり、様々な脳神経回路の機能が明らかにされてきた。マウスの脳の構造上、脳表より 1.0mm 付近にある白質層において光透過性が低いことが経験的に知られており、研究範囲は脳表に限られていた。TPM イメージングではモード同期チタンサファイアレーザが多用されてきているが、我々は、これまでにモード同期半導体レーザベースの 1030 nm 帯ピコ秒パルス光源により、若齢マウスの脳表面から 1.4mm にある海馬の *in vivo* イメージングが可能であることを実証した<sup>[1]</sup>。TPM 技術の進歩に伴い、より小型で安定性に優れた高機能光源の開発が不可欠な状況になりつつある。今回、新たに利得スイッチング (GS) 動作の半導体レーザ (LD) を心臓部とする 1060 nm 帯ピコ秒パルス光源を開発し、生体脳深部イメージングにおいてパフォーマンスの向上を得たので報告する。

**実験および結果** 新規開発の 1060 nm 帯光源の心臓部は高速電気パルスによる強励起のもとで約 7 ps 幅の光パルスを発生する GSLD である<sup>[2]</sup>。これを繰り返し周波数 10MHz で動作させ、光パルス出力を大口径コアの光ファイバ増幅器により平均出力 3W まで増幅して TPM (NIKON、A1R MP+) 系に導光した。そこで、H-Line マウス (Thy1-EYFP-H) 生体脳の深部イメージングを実施した結果、若齢および成獣マウス的大脑皮質 V 層錐体細胞の全景に加え、海馬 CA1 錐体細胞の頂上樹状突起の可視化に成功した (Fig.1)。この結果は、焦点面における 2 光子励起確率の高効率化が生体脳深部にある海馬を週齢に関わらず可視化できた要因であると推測される。本研究成果は記憶や学習といった脳の機能を解き明かすうえで、重要な基盤技術となることが期待される。

**謝辞** 本研究は、一部、JST 戦略的創造研究推進事業 (CREST) の研究課題「ベクトルビームの光科学とナノイメージング」の支援を得た。

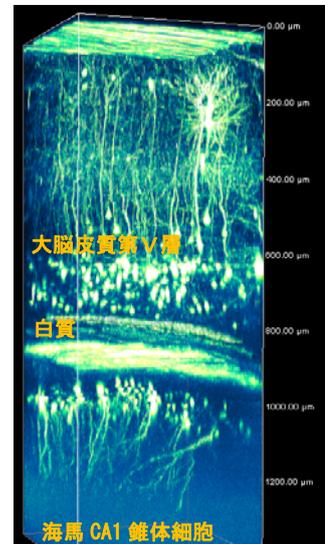


Fig.1 H-Line マウス (大脑皮質 V 層錐体細胞と海馬の一部の錐体細胞において EYFP を発現する遺伝子改変マウス) 生体脳 TPM イメージングの 3 次元再構築像

### References

1. R. Kawakami, K. Sawada, A. Sato, T. Hibi, Y. Kozawa, S. Sato, H. Yokoyama, and T. Nemoto, *Sci. Reports*, vol. 3, 1014 (2013).
2. Y. Kusama, Y. Tanushi, M. Yokoyama, R. Kawakami, T. Hibi, Y. Kozawa, T. Nemoto, S. Sato, and H. Yokoyama, *Optics Express* vol. 22, (2014)