

In vivo két-foton pásztázó mikroszkópiás mérések altatott és éber egér és patkány idegrendszerében

A projekt nem szakmai jellegű összefoglalója:

Az idegrendszer működésének és annak patológiás elváltozásainak megértéséhez nélkülözhetetlen az idegsejtek és azok hálózatának vizsgálata kísérletes állatokban. A jelen kérelem tárgya egy olyan kísérletes állatokon végzett kísérletsorozat melyben a pályázó a legmodernebb in vivo és in vitro képképzési, élettani, molekuláris és anatómiai módszerek kombinálásával vizsgálja a központi idegrendszert felépítő idegsejteket és azok szinaptikus hálózatának működését "viselkedő" állatokban. A kísérleteink fő célja, hogy a központi idegrendszer egy bizonyos területének (pl. hippocampus) működése alatt fellépő idegsejt aktivitást optikai módszerrel nyomon kövessük, majd az agyterületből készített túlélő agyszelvényen in vitro élettani és anatómiai módszerekkel jellemezzük a különböző viselkedés alatt nyomonkövetett idegsejteket. Röviden: az állatnak megtanítjuk, hogy egy bizonyos környezetben (vitruális valóság) jutalmat kap, míg más környezetben nem. A hippocampus felelős a térbeli tájékozódásért és a különböző környezetben más és más hippocampális idegsejt csoportok aktiválódnak (azaz más és más idegsejtcsoport kódolja a különböző környezeteket). Arra vagyunk kíváncsiak, hogy a különböző környezetet kódoló idegsejtcsoportok más és más belső tulajdonsággal rendelkeznek-e és más módon vannak-e szinaptikusan összekapcsolva. Ezen kérdés megválaszolása csak úgy lehetséges, hogy először az idegsejtek aktivitását viselkedő állatokban regisztráljuk, majd a hasonló működést mutató sejtek tulajdonságait és kapcsolataik erősségét in vitro élettani módszerekkel vizsgáljuk.

A kísérletekhez műtétekre van szükségünk. Sejt-aktivitást jelző fehérjéket kell kifejezni meghatározott idegsejtekben; ehhez a megfelelő DNS-t hordozó vírus vektort injektálunk az agyba. Az optikai vizsgálatokhoz a két-foton mikroszkóp számára fel kell tárunk a vizsgálandó agyterületet; ehhez üveglemezzel zárt optikai hengert építünk a hippocampus fölé. Az állat fejét egy a koponyához rögzített külső lemez segítségével pozícionáljuk a mikroszkópos vizsgálatához, miközben a test szabadon mozoghat. A vizsgálatok során az állat számítógéppel generált vizuális (környezeti) „feladatokat” kap, és a „jó” válaszait jutalomfalatokkal, jutalom-itallal díjazzuk. A tanulási folyamat alatt optikai és elektrofiziológiai mérésekkel elemezzük a folyamatban részt vevő idegi hálózatok működését. Ezen eredmények nem csak alapvető neurobiológiai kérdéseket fognak megválaszolni, hanem alapjául szolgálnak az idegrendszert érintő betegségek alatt bekövetkezett változások megértéséhez.