

In vivo elektrofiziológiai és két-foton mikroszkópiás vizsgálatok altatott és éber egér és patkány agyában

A projekt nem szakmai jellegű összefoglalója:

Az idegrendszer működésének és 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 képalkotási és élettani módszerek kombinálásával vizsgálja a központi idegrendszert felépítő idegsejteket, azok sejtalkotóinak és szinaptikus hálózatának működését éber, "viselkedő" állatokban. A kísérleteink fő célja, hogy a központi idegrendszer egy bizonyos területének (hippokampusz) élettani működése során az idegsejtek és nyúlványaik aktivitását optikai és elektrofiziológiai módszerekkel nyomon kövessük, optogenetikai módszerekkel (mesterséges fényvel aktiválható molekulák segítségével) manipuláljuk, majd - egyes kísérletek esetében - az agyterületből készített túlélő agyszeleten élettani módszerekkel jellemezzük a viselkedés alatt nyomon követett idegsejteket. A hippokampusz felelős a térbeli tájékozódásért és a különböző környezetben más és más hippokampális idegsejt csoportok aktiválódnak (azaz más és más idegsejtcsoport kódolja a különböző környezeteket). Arra vagyunk kíváncsiak, hogy a környezetet kódoló idegsejtek nyúlványainak aktivitása hogyan járul hozzá a kódoló sejtválasz kialakulásához, illetve az egyes kódoló idegsejtcsoportok milyen specifikus belső tulajdonságokkal rendelkeznek. Ezen kérdések megválaszolása csak úgy lehetséges, ha az idegsejtek aktivitását éber állatokban, a viselkedésük függvényében monitorozzuk.

A kísérletekhez műtétekre van szükségünk. Sejt-aktivitást jelző fehérjéket kell kifejezni meghatározott idegsejtekben; ehhez egyes kísérletekben a megfelelő DNS-t hordozó vírus vektort injektálunk az agyba. Az optikai vizsgálatokhoz a két-foton mikroszkóp számára fel kell tárnunk a vizsgálandó agyterületet; ehhez üveglemezzel zárt optikai hengert építünk a hippokampusz fölé. Az elektrofiziológiai vizsgálatokhoz egy kis területen a koponyacsontot megnyitva juttatjuk be a vékony mérőelektrodát a vizsgálni kívánt sejtekhez. A kísérletek során, az élő állatban történő mérésekhez elengedhetetlen mechanikai stabilitás érdekében az állat fejét egy - a koponyához rögzített - külső lemez segítségével pozícionáljuk, miközben a test szabadon mozoghat. A vizsgálatok során az állat térben virtuálisan navigál, melynek során a sikeres viselkedést jutalom-itallal díjazzuk. A tanulási folyamat alatt optikai és elektrofiziológiai mérésekkel elemezzük a folyamatban részt vevő idegsejtek és idegi hálózatok működését, valamint az élő állatban adott információt kódoló, aktív sejteket fluoreszcens fehérjével megjelölve és utólag azonosítva agyszeletben részletesen vizsgáljuk tulajdonságaikat. Ezen eredmények nem csak alapvető neurobiológiai kérdéseket fognak megválaszolni, hanem alapjául szolgálnak az idegrendszert érintő betegségek alatt bekövetkezett változások megértéséhez.

A műtéteket mély altatásban és posztoperatív fájdalomcsillapítás alkalmazásával végezzük. Az állatok műtét utáni felépülését, komfort-feltételeit valamint a viselkedés-vizsgálatok/mérések alatti jóllétét szakképzett gondozók és - szükség esetén - állatorvos felügyeli. A projekt során évente maximum 500 fiatal felnőtt egeret és maximum 200 fiatal felnőtt patkányt fogunk felhasználni.