

高分子超薄膜（ナノシート）を活用したマウス脳の広視野 *in vivo* 二光子イメージング

○高橋 泰伽^{1,2,3} (ttaiga@nips.ac.jp)、張 宏^{4,5}、揚妻 正和⁶、鍋倉 淳一^{3,6}、大友 康平^{1,2,7}、
岡村 陽介^{4,5,8}、根本 知己^{1,2,3}

¹生命創成探求センター バイオフォトンクス研究グループ、²生理学研究所 バイオフォトンクス研究部門、³総合研究大学院大学、⁴東海大学工学部、⁵東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター、⁶生理学研究所 生体恒常性発達研究部門、⁷順天堂大学大学院医学研究科、⁸東海大学大学院工学研究科

我々は、高い柔軟性、接着性、光透過性を有する生体適合性のナノシートをマウスの頭蓋骨の代替物として活用する広範囲観察窓の作成法を開発し、生きたままのマウス脳内の神経細胞を広範囲かつ深部領域において可視化することに成功した。

二光子励起蛍光顕微鏡を用いて、マウス生体脳深部を高解像度で観察するためには、光の散乱・吸収の原因となる頭蓋骨を除去し、観察対象とする脳領域の直上にカバーガラスを設置することで、光透過性高めた観察窓を作成する必要がある。しかし、広範囲の頭蓋骨を除去する場合、出血や炎症等が生じやすい。また、カバーガラスは硬質かつ平坦であるために脳の曲率に対応できず、広範囲観察窓の素材として使用した場合は生体脳を強く圧迫し、血液や脳脊髄液等の体液循環を阻害する。これらのことから、一般的な観察窓の作成範囲は直径数 mm 程度であった。

本研究では、高分子ポリマーを素材とする厚さ百 nm 前後のナノシートを活用することで広範囲観察窓を実現した。生体脳に対する接着力を向上させるため、低屈折率かつ高い光透過性を有するポリマーの CYTOP 層の表面に polyethylene oxide を添加することで接着面を親水化処理した PEO-CYTOP ナノシートを活用した。これにより、生体脳組織に対する接着力を高め、ナノシートの高い止血効果を実現した。さらに、ナノシートの柔軟性も併せて活用することで、従来法の課題であった脳表面への機械的な圧力を低減した新規広範囲観察窓の作成法を確立し、頭頂部広域における大脳皮質全層の神経細胞の *in vivo* 二光子イメージングを実現した。