

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623347>

Разработка микроэлектрода для одновременной кальциевой и электрофизиологической регистрации активности нейронов гиппокампа *in vivo*

А.И. Ерофеев^{1*}, Е.К. Винокуров¹, О.Л. Власова¹, И.Б. Безпрозванный^{1, 2}¹ Институт биомедицинских систем и биотехнологий, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Российская Федерация;² University of Texas Southwestern Medical Center, Даллас, США

АННОТАЦИЯ

Визуализация кальция (Ca^{2+}) является широко используемым методом в нейробиологии для прижизненной регистрации нейронной активности. Она представляет собой оптическое измерение концентрации кальция с помощью генетически кодируемых кальциевых индикаторов (ГекКИ) [1]. Однако кинетика изменения флуоресценции ГекКИ относительно медленная и ограничена биофизикой связывания индикатора с кальцием [2]. В ответ на одиночные потенциалы действия (ПД) в пирамидальных нейронах большинство широко используемых ГекКИ имеют период полураспада флуоресценции порядка 100 мс [3]. Следовательно, ГекКИ не могут предоставить полную информацию о динамике нейронных ансамблей. Частично проблема решается путём создания новых вариантов ГекКИ, таких как jGCaMP7 [3], jGCaMP8 [4], или использованием генетически кодируемых индикаторов напряжения (ГекИН), таких как JEDI-2P [5]. Однако скорость ГекКИ или ГекИН всё ещё уступает скорости регистрации электрофизиологических методов. По этой причине мы разработали микроэлектрод, который можно использовать вместе с градиентной линзой для прижизненной кальциевой визуализации посредством минископа.

Минископ представляет собой однофотонный эпифлуоресцентный миниатюрный микроскоп для кальциевой визуализации. В отличие от традиционно применяемой двухфотонной визуализации, минископ позволяет регистрировать нейронную активность у свободно передвигающихся лабораторных животных. Вместо объектива у минископа используются линзы с градиентным показателем преломления (GRIN-линзы), которые имплантируются непосредственно в мозг лабораторного животного. Градиентные линзы представляют собой прозрачный цилиндр диаметром 1,8 мм и длиной 3,8 мм. Для реализации электрофизиологической записи мы разработали микроэлектрод, который можно совместить в GRIN-линзой.

Микроэлектрод представляет собой трёхслойную структуру: 1 — полиимидная плёнка; 2 — токопроводящие медные дорожки, нанесённые методом термоформовки; 3 — полиимидная плёнка с вырезами для контактных площадок. На одной из сторон микроэлектрода расположены 12 позолоченных токопроводящих контактов для регистрации локальных полевых потенциалов, а на другой стороне — аналогичное количество токопроводящих дорожек для подключения коннектора, осуществляющего передачу данных на плату обработки. Гибкий микроэлектрод оборачивается вокруг градиентной линзы с фиксацией путём термоформовки и впоследствии имплантируется в головной мозг животного.

С помощью разработанного микроэлектрода мы планируем провести сравнительный анализ кальциевой и электрофизиологической активности нейронов гиппокампа свободно передвигающихся мышей дикого типа и с моделью болезни Альцгеймера. Данное исследование позволит выявить нарушения при болезни Альцгеймера на уровне нейронных ансамблей и, как следствие, предложить потенциально новые методы лечения или механизмы развития патологии, связанной с прогрессирующей потерей памяти при болезни Альцгеймера.

Ключевые слова: микроэлектрод; минископ; визуализация кальция; электрофизиологическая активность.

Как цитировать:

Ерофеев А.И., Винокуров Е.К., Власова О.Л., Безпрозванный И.Б. Разработка микроэлектрода для одновременной кальциевой и электрофизиологической регистрации активности нейронов гиппокампа *in vivo* // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 802–805. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623347>

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Рукопись получена: 09.05.2023

Рукопись одобрена: 26.11.2023

Опубликована online: 20.01.2024

Источник финансирования. Авторы благодарят Большакову Анастасию Викторовну за административную помощь, а также сотрудников лаборатории молекулярной нейродегенерации за помощь и полезные советы. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда «Исследование кальциевой и электрофизиологической активности нейронов гиппокампа *in vivo* у мышей с моделью болезни Альцгеймера» (№ 22-75-00028).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Grienberger C., Konnerth A. Imaging calcium in neurons // *Neuron*. 2012. Vol. 73, N 5. P. 862–885. doi: 10.1016/j.neuron.2012.02.011
2. Tay L.H., Griesbeck O., Yue D.T. Live-cell transforms between Ca²⁺ transients and FRET responses for a troponin-C-based Ca²⁺ sensor // *Biophys J*. 2007. Vol. 93, N 11. P. 4031–4040. doi: 10.1529/biophysj.107.109629
3. Dana H., Sun Y., Mohar B., et al. High-performance calcium sensors for imaging activity in neuronal populations and microcompartments // *Nat Methods*. 2019. Vol. 16, N 7. P. 649–657. doi: 10.1038/s41592-019-0435-6
4. Zhang Y., Looger L.L. Fast and sensitive GCaMP calcium indicators for neuronal imaging // *J Physiol*. 2023. Vol. P. 10.1113/JP283832P. doi: 10.1113/JP283832
5. Liu Z., Lu X., Villette V., et al. Sustained deep-tissue voltage recording using a fast indicator evolved for two-photon microscopy // *Cell*. 2022. Vol. 185, N 18. P. 3408–3425.e29. doi: 10.1016/j.cell.2022.07.013

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

* А.И. Ерофеев; адрес: Российская Федерация, 195251, Санкт-Петербург, Политехническая ул., д. 29;
e-mail: alexandr.erofeew@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623347>

Development of a microelectrode for simultaneous *in vivo* calcium and electrophysiological recording of hippocampal neuronal activity

A.I. Erofeev^{1*}, E.K. Vinokurov¹, O.L. Vlasova¹, I.B. Bezprozvanny^{1,2}¹ Institute of Biomedical Systems and Biotechnologies, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russian Federation;² University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, USA

ABSTRACT

Calcium (Ca²⁺) imaging is frequently used in neuroscience for recording neuronal activity *in vivo*. This method measures calcium concentration optically using genetically encoded calcium indicators (GECI) [1]. However, the kinetics of GECI fluorescence changes are restrained by the biophysics of calcium binding, resulting in relatively slow responses [2]. In response to single action potentials (APs) in pyramidal neurons, most widely used GECIs exhibit a fluorescence half-life of about 100 ms [3]. As a result, GECI cannot provide exhaustive data about neural ensembles' dynamics. To tackle this issue, novel GECI variants like jGCaMP7 [3] and jGCaMP8 [4] or GEVI such as JEDI-2P [5] have been implemented. Nonetheless, the velocity of GECI or GEVI remains inferior to electrophysiological recording techniques. Thus, we have developed a microelectrode that is compatible with a gradient lens for *in vivo* calcium imaging using a miniscope.

The miniscope is a small microscope used for single photon epifluorescence Ca²⁺ imaging, allowing for recording of neuronal activity in freely moving laboratory animals, in contrast to the traditionally used two-photon imaging technique. Instead of a conventional lens, gradient-index (GRIN) lenses are implanted directly into the brain of laboratory animals. These lenses are transparent cylinders with a 1.8 mm diameter and 3.8 mm length. We developed a microelectrode that can be aligned with a GRIN lens to facilitate electrophysiological recording.

The microelectrode comprises three layers, including a polyimide film, conductive copper tracks deposited through thermoforming, and a polyimide film with cutouts for pads. One side of the microelectrode contains 12 gold-plated conductive contacts for registering local field potentials, and the other side has a similar number of conductive tracks for connection to a connector that transmits data to the processing board. The flexible microelectrode is wrapped around a gradient lens, fixed with thermoforming, and then implanted into the brain of the animal.

Using the microelectrodes developed, we aim to analyze and compare the calcium and electrophysiological activity of hippocampal neurons in freely moving wild-type mice and in a mouse model of Alzheimer's disease. Through this study, any abnormalities in Alzheimer's disease at the level of neural ensembles can be identified, possibly suggesting new treatment approaches or mechanisms for the progressive memory loss pathology associated with this disease. We would like to express our appreciation to Anastasia Viktorovna Bolshakova for her administrative support, and to the Laboratory of Molecular Neurodegeneration staff for their valuable assistance and guidance.

Keywords: microelectrode; miniscope; calcium imaging; electrophysiological activity.

To cite this article:

Erofeev AI, Vinokurov EK, Vlasova OL, Bezprozvanny IB. Development of a microelectrode for simultaneous *in vivo* calcium and electrophysiological recording of hippocampal neuronal activity. *Genes & cells*. 2023;18(4):802–805. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623347>

ADDITIONAL INFORMATION

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Funding sources. This work was supported by the Russian Science Foundation grant "In Vivo Study of Calcium and Electrophysiological Activity of Hippocampal Neurons in Mouse Model of Alzheimer's disease" (No. 22-75-00028).

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Received: 09.05.2023

Accepted: 26.11.2023

Published online: 20.01.2024

REFERENCES

1. Grienberger C, Konnerth A. Imaging calcium in neurons. *Neuron*. 2012;73(5):862–885. doi: 10.1016/j.neuron.2012.02.011
2. Tay LH, Griesbeck O, Yue DT. Live-cell transforms between Ca²⁺ transients and FRET responses for a troponin-C-based Ca²⁺ sensor. *Biophys J*. 2007;93(11):4031–4040. doi: 10.1529/biophysj.107.109629
3. Dana H, Sun Y, Mohar B, et al. High-performance calcium sensors for imaging activity in neuronal populations and microcompartments. *Nat Methods*. 2019;16(7):649–657. doi: 10.1038/s41592-019-0435-6
4. Zhang Y, Looger LL. Fast and sensitive GCaMP calcium indicators for neuronal imaging. *J Physiol*. 2023;10.1113/JP283832. doi: 10.1113/JP283832
5. Liu Z, Lu X, Villette V, et al. Sustained deep-tissue voltage recording using a fast indicator evolved for two-photon microscopy. *Cell*. 2022;185(18):3408–3425.e29. doi: 10.1016/j.cell.2022.07.013

AUTHORS' CONTACT INFO

* A.I. Erofeev; address: 29 Politekhnicheskaya street, 195251 Saint Petersburg, Russian Federation; e-mail: alexandr.erofeew@gmail.com