

Использование кальциевого имиджинга нейрональных культур в задаче исследования вариабельности спонтанной и вызванной пачечной активности нейронов *in vitro*

А.В. Васильков¹, М.К. Татаринцев², М.С. Бурцев²

¹Московский физико-технический институт (государственный университет)

²Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

Большое количество исследований в области нейронауки направлено на исследование и изучение закономерностей механизмов участия отдельных нейронов в формировании новых функциональных сетей нейронов в процессе обучения и на определение их роли в составе нейронных ансамблей в механизмах памяти[1]. Существует множество различных экспериментальных методов позволяющих измерить различные характеристики культуры в целом и отдельных клеток в частности. Для полноты описания исследуемых процессов исследователю необходимо использовать несколько методов, комбинируя их достоинства[2].

Метод микроэлектродной регистрации при помощи мультиэлектродной матрицы позволяет регистрировать электрическую активность диссоциированной нейрональной культуры *in vitro*. Несомненным достоинством такого подхода является высокое временное разрешение – 40 микросекунд. Однако, получаемый с каждого электрода сигнал является суммой электрических потенциалов, сгенерированных нейронными клетками расположенными вблизи электродов - обычно от 10 нейронов. Увеличение пространственной разрешающей способности метода сопряжено с большими техническими трудностями, усложнением аппаратуры, ухудшением соотношения сигнал/шум[3].

Применение кальциевых красителей позволяет визуализировать поток ионов кальция в клетках нейрональной культуры – событие активации нейрона, наблюдаемое в электрическом диапазоне, сопровождается изменением яркости свечения нейрона из-за активации красителя. Таким образом, метод кальциевого имиджинга позволяет наблюдать за активностью культуры с клеточным разрешением, что превышает возможности метода мультиэлектродной матрицы, но временное разрешение значительно хуже (от 10 мс).

Решение задачи анализа активности нейрональной культуры на основе данных кальциевого имиджинга и данных о электрофизиологической активности позволит разработать методику определения роли отдельных нейронов в протекающих биологических процессах, что позволит выйти на качественно иной уровень понимания фундаментальные процессов в нервных системах.

В рамках данной работы исследовалась вариабельность культуры спонтанной и вызванной пачечной активности нейронов *in vitro*. Установленный характер спонтанной электрофизиологической активности нейрональной культуры сопоставлялся с наблюдаемой оптической активностью группы нейронов, расположенных вблизи выбранного электрода микроэлектродной матрицы. Анализировался характер активности нейронов в составе выявленных в электрофизиологических данных паттернах активности. Далее, нейрональная культура стимулировалась через выбранный электрод, продолжалось наблюдение методом кальциевого имиджинга. Был произведен сравнительный анализ полученных на каждом этапе эксперимента наборов данных.

Для проведения исследовательской работы был разработан программный комплекс для детектирования клеток на изображении и определения событий вспыхивания. Для визуализации характера распределения яркости в событиях вспышки были построены тепловые карты.

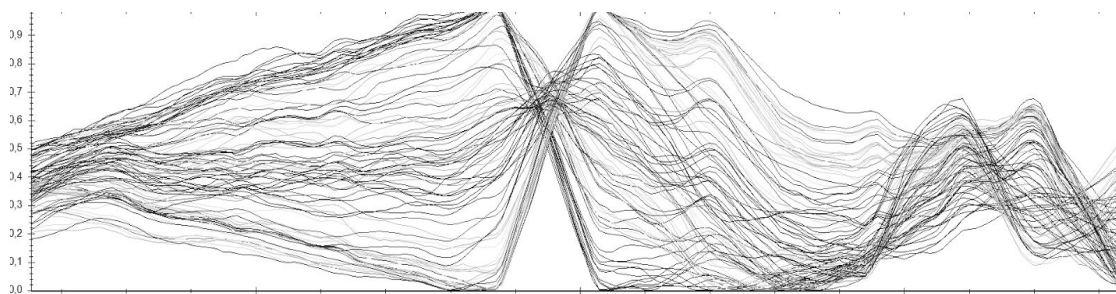


Рис. 1. График нормализованных кривых интенсивностей выявленных нейронов. Каждая кривая отсчитывает отдельный нейрон. На графике отображено событие последовательной активации двух групп нейронов.

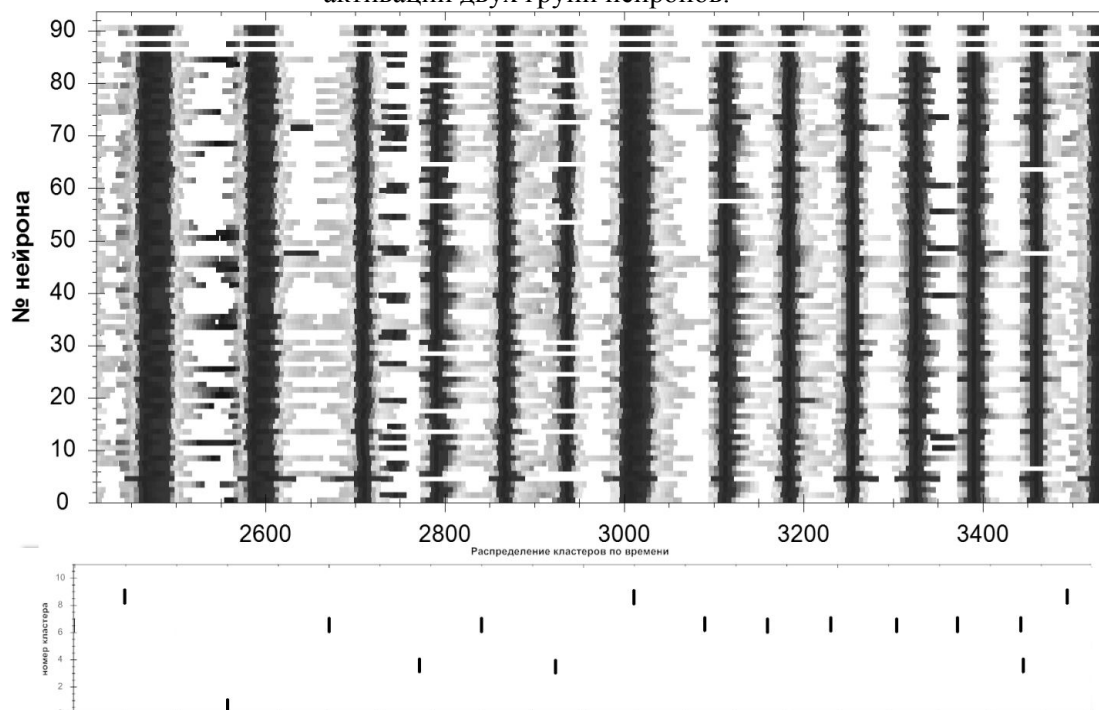


Рис. 2. Вывод обработанных программным комплексом данных (сверху вниз): Тепловая карта выявленных всплесков каждого нейрона. События пачечной активности, разбитые по кластерам.

Литература

1. Анохин К. В. и др. Современные подходы к моделированию активности культур нейронов *in vitro* //Математическая биология и биоинформатика. – 2012. – Т. 7. – №. 2. – С. 372-397.
2. Churchland P.S., Sejnowski T.J. Perspectives on Cognitive Neuroscience. Science. 1988. V. 242. № 4879. P. 741–745.
3. Berdondini L. et al. High-density electrode array for imaging *in vitro* electrophysiological activity //Biosensors and bioelectronics. – 2005. – Т. 21. – №. 1. – С. 167-174.