

---

## 脳機能計測センター CENTER FOR BRAIN EXPERIMENT

### 形態情報解析室 Section of Brain Structure

#### 職員 (Staff)

---



#### 准教授 有井 達夫

東北大学理学部卒, 名古屋大学大学院理学研究科修士課程修了, 同工学研究科博士課程修了, 工学博士。レーゲンスブルク大学助手, 名古屋大学助手を経て昭和54年10月から現職。  
専攻: 電子顕微鏡学。

#### Associate Professor: ARII, Tatsuo, PhD

1967 Graduated from Tohoku University, Faculty of Science. 1972 Completed the doctoral course in Engineering, Nagoya University. 1972 Research Associate, Nagoya University. 1973 Research Associate, Regensburg University. 1976 Research Associate, Nagoya University. 1979 Associate Professor, NIPS.  
Speciality: Electron Microscopy



#### 助教 古家 園子

東京大学薬学部卒, 同大学院博士課程修了, 薬学博士。日本医科大学助手を経て昭和53年3月から現職。  
専攻: 培養細胞の形態生理学。

#### Assistant Professor: FURUYA, Sonoko, PhD

1970 Graduated from University of Tokyo, Faculty of Pharmacy. 1975 Completed the doctoral course in Pharmacy, University of Tokyo. 1975 Research Associate, Nihon Medical College. 1978 Research Associate, NIPS.  
Speciality: Tissue Culture and Histology

#### 研究内容

---

脳機能を脳神経系の微細構造や神経結合から研究することを目的としている。設備としては超高压電子顕微鏡(H-1250M型: 常用加速電圧 1,000kV)を備えている。本装置は医学・生物学専用としては国内唯一の超高压電子顕微鏡であり, 常に技術的改良が加えられると共に, 画像解析方法や観察方法に関しても開発が行われている。この装置を用いた全国共同利用実験が行われている。この共同利用実験は(I)生体微細構造の三次元解析, (II)生物試料の高分解能観察, (III)生物試料の自然状態における観察の三課題を主な柱としている。

またよりマクロなレベルの形態研究用として, 各種の細胞の初

代培養や継代培養, 脳スライスの培養, モノクローナル抗体の作成を行える設備および凍結切片やパラフィン切片等の標本作成用設備を備えている。これらの試料を観察するためにビデオ観察も行える各種の光学顕微鏡設備を備えている。

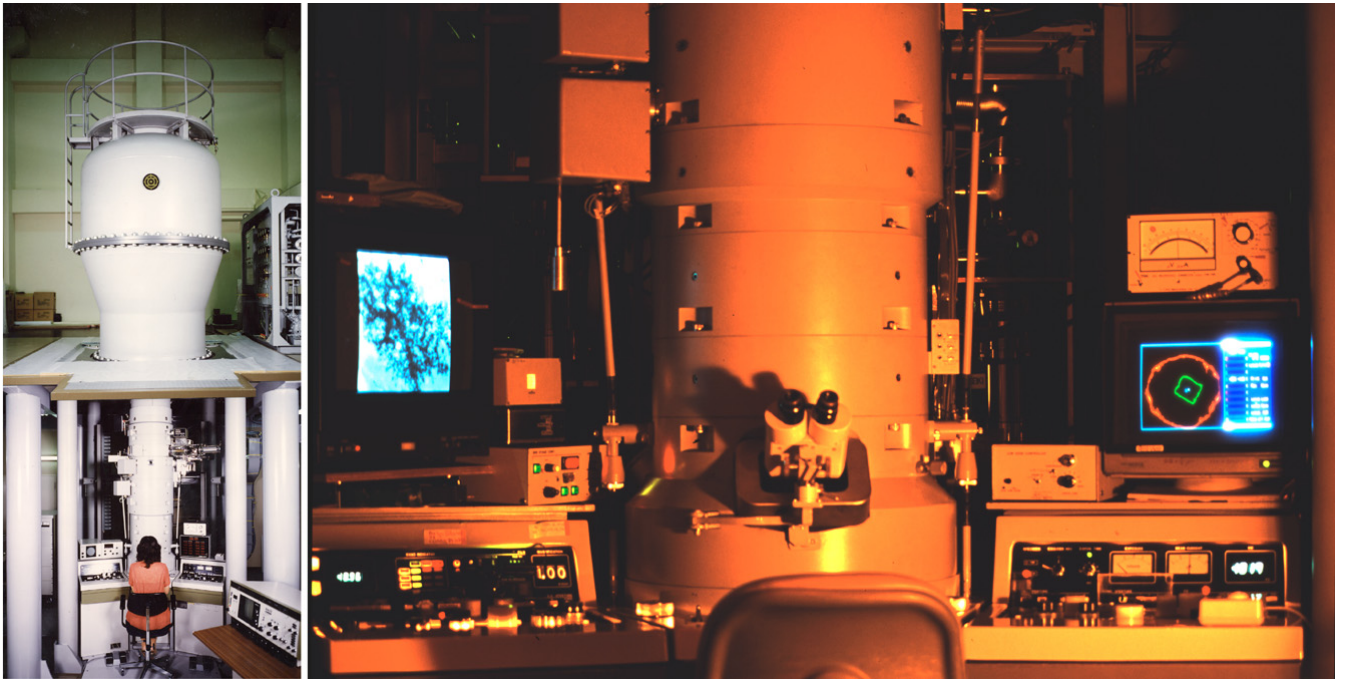
#### Research works

---

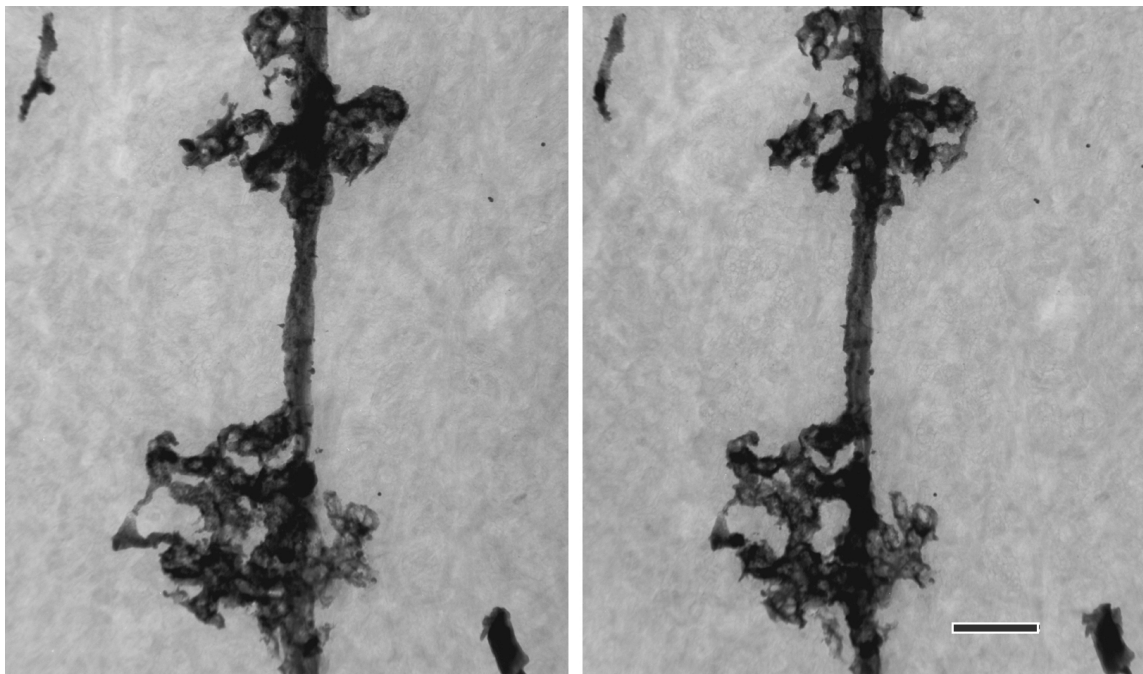
The ultimate object of this laboratory is to clarify the relations between structures and functions in the brain. To study them, a high voltage electron microscope (H-1250M) which is specially designed for biological and medical research is available since 1982. The daily accelerating voltage of the microscope is 1,000kV. The pressure near the specimen position is less than  $7 \times 10^{-6}$  Pa and the magnification ranges 1k to 1,000k times. Transmission images of thick specimens till about 5 $\mu$ m can be taken.

Since this is the only high voltage electron microscope in the biological field in Japan, the collaborative programs are carried out by about 15 research groups from Universities etc. on three projects: 1) Three-dimensional analysis of fine structures of biological specimens 2) High resolution observation of biological specimens 3) Observation of biological specimens in their natural conditions.

Facilities for tissue culture and light microscopy are also provided. Cryostats, microtomes and fluorescence microscopes with a high-resolution colour cooled CCD camera system are prepared for immunohistochemistry. Inverted microscopes with a time lapse video system are prepared to observe cultured cells.



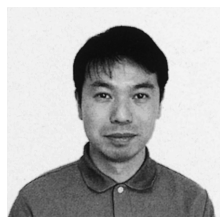
医学生物学用超高压電子顕微鏡(H-1250M 型: 常用加速電圧 1,000kV)  
 High voltage electron microscope (H-1250M: 1,000kV)  
 Specially designed for the exclusive use of medical and biological specimens



ゴルジ染色したラット小脳におけるパーグマンガリアの突起  
 ステレオ像(±8° 傾斜, 加速電圧 1,000kV にて撮影)。試料膜厚: 3  $\mu$ m。スケールの長さ: 2  $\mu$ m。  
 Cell processes of a Bergmann glia in the rat cerebellum revealed by Golgi staining  
 Stereo images taken at  $\pm 8^\circ$  tilt at 1,000kV. Specimen thickness: 3  $\mu$ m. Scale bar: 2  $\mu$ m.

## 機能情報解析室 Section of Brain Function

### 職員 (Staff)



#### 准教授 達本 徹

京都大学医学部卒，同大学院医学研究科博士課程修了，博士(医学)。彦根市立病院内科医長，生理学研究所助手，京都大学医学研究科助手を経て平成11年4月から現職。  
専攻:脳生理学。

Associate Professor: TSUJIMOTO, Toru, MD, PhD

1986 Graduated from Kyoto University, Faculty of Medicine. 1990 Completed the doctoral course in Medicine, Kyoto University. 1993 Research Associate, NIPS. 1994 Research Associate, Kyoto University. 1999 Associate Professor, NIPS.  
Speciality: Neurophysiology

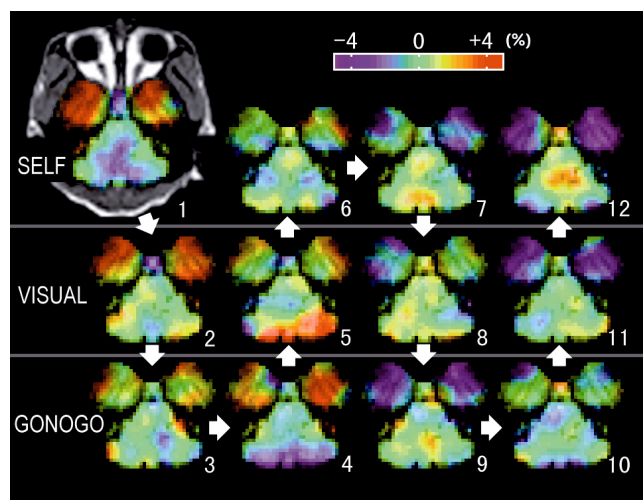


図1 3種類の運動をしている時の脳活動状態(1日分の計測例)  
手でレバーを動かして報酬を得る次の3通りの課題をサルに学習させた。(1)自分のペースで動かす(SELF課題)。(2)眼前で光がついたら動かす(VISUAL課題)。(3)赤と緑の光がランダムな順序でつくので緑の時だけ動かす(GONOGO課題)。これら3つの課題を图中的1から12の数字の順序で2分間ずつ計測した。脳活動状態は一見ランダムな変動を示すが、計測を繰返して統計学的に有意な変化を抽出し、脳の立体図上に表示したものが図2, 3, 4である。

**Figure 1. Brain activity during three kinds of movement tasks (a specimen record in one day).**

The monkey was engaged in hand movement tasks to get a reward in three different sets of circumstances; i.e. the self-initiated movement task (SELF), the visually-initiated movement task (VISUAL), and the color-discriminating go/no-go task with asymmetrical reinforcement (GONOGO). Arrows and numbers indicate the order in which they were taken. Although the activity fluctuates, a statistical analysis across repetitive measurements can extract the significant activity changes (Figures 2, 3, and 4)

### 研究内容

思考, 判断, 意志などを司る脳のしくみを明らかにするには, ヒトの脳を研究する必要がある。非侵襲的な脳機能検査法がこのために有用である。しかし現在のところそれらによる情報だけでは不十分であり, 脳活動を直接的に記録あるいは操作できる動物実験を行うことも必要不可欠である。このような観点から, サルの研究とヒトの研究を相互に関連させながら進めている。研究手法としては, 大脳皮質電位の直接記録法, PET(陽電子断層撮影法), 脳磁図などを併用している。

### Research works

In order to investigate the brain mechanism underlying our mental ability such as cognition, voluntary movement, thinking, or will, we have to experiment on the human brain. Some non-invasive techniques for measuring brain are certainly useful for the purpose. However, they are still insufficient in the quality of information. To overcome the limitations, researches on the brain are carried out here in both the human and monkey subjects using various techniques including direct recordings of cortical field potential, magnetoencephalography, and positron emission tomography.

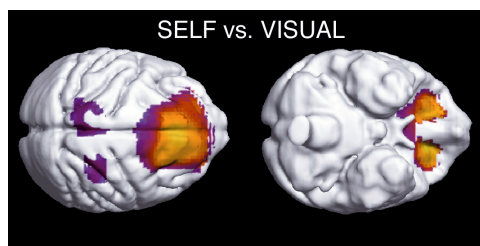


図2 SELF課題のときに活性化する領域  
Figure 2. Regions activated in SELF task.

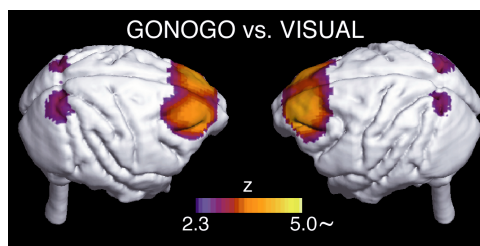


図3 GONOGO課題のときに活性化する領域  
Figure 3. Regions activated in GONOGO task.

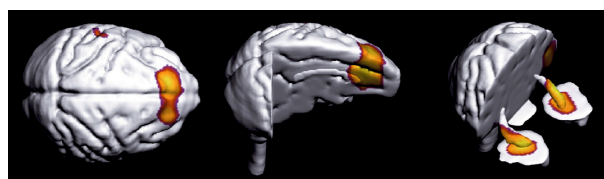


図4 課題を1日に何度も繰返していると脳活動が漸減する領域  
課題の種類とは無関係であり, 「やる気」の減退と関係している可能性がある。

**Figure 4. Regions of significant decrease in activity during task repetition in a day.**

The decline in the activity of the limbic and prefrontal regions may be a reflection of a decline in the willingness.



生体情報解析室  
(2光子顕微鏡施設)  
Section of Information Processing  
(Two-photon microscopy)

職員 (Staff)



准教授 根本 知己

東京大学理学部物理学科卒, 東京工業大学大学院博士課程修了, 博士(理学)。理化学研究所フロンティア研究員, 同基礎科学特別研究員, 東京大学医学部生理学教室日本学術振興会研究員, 生理学研究所助手, 科学技術振興機構さきがけ研究21研究員を経, 平成18年1月から現職。  
専攻: 細胞生理学, 生物物理学。

Associate Professor: NEMOTO, Tomomi, PhD

1991 Graduated from, Department of Physics, Faculty of Science, the University of Tokyo. 1996 Completed the doctoral course in Applied Physics in Tokyo Institute of Technology. 1996-1997 Frontier Researcher and Special Postdoctoral Researcher, RIKEN. 1997-1999 Research fellow, the University of Tokyo. 1999-2005, Assistant professor, NIPS. 2001-2004, Researcher, PRESTO, JST.  
Specialty: Cell physiology, Biophysics

研究内容

① 2光子顕微鏡イメージンググループ

世界で最も優れた性能の2光子顕微鏡群を構築し提供する日本唯一のバイオ分子イメージングのための共同利用拠点である。我々のミッションは、神経、ホルモン分泌、発生分化、免疫など、欠くことのできない生理機能について生体分子と身体との間に横たわる機能のミッシング・リンクを解明することである。そのため遺伝子工学、電気生理学、光分子や量子光学など多岐にわたる技術を活用し、バイオ分子イメージングの新局面を切り拓いている。現在、生きた個体、生体組織での細胞や分子の全く新しい機能イメージングに成功し、シナプスや分泌腺細胞の分泌機能＝開口放出・溶液輸送の分子機構について「逐次開口放出」など新概念の提出に成功している(図1-3)。

② コンピューター・ネットワークグループ

今や研究を進める上で、コンピュータや情報ネットワークはなくてはならないものになっている。当室は、データ解析やシミュレーションのための HP ES45 を中核とする生体情報解析システムを始め、高速で安定した情報ネットワークやそれを利用した様々な情報サービス、高画質デジタルカラープリンタ等の端末・周辺装置群を運用し、所内の研究に活用されている。また、これらの設備を有効に利用するための技術開発を進めている(図4、5)。

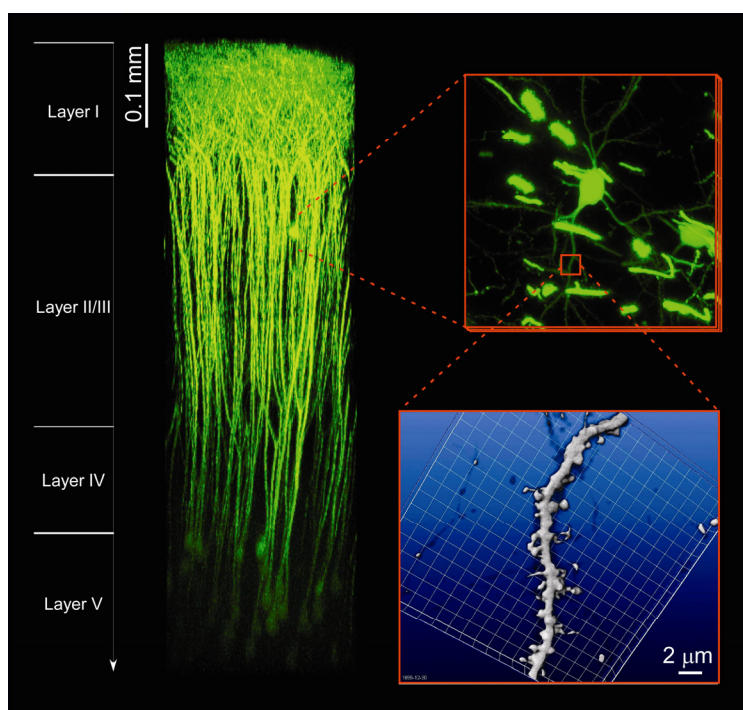


図1. 生きているマウスの大脳皮質の EYFP 発現神経細胞群の 3 次元再構築。我々の新たに開発した“*in vivo*” 2 光子顕微鏡法は世界で最も優れたもののひとつである。その優れた深部到達性は生体深部の微細な細胞の形態や活動を観察することを可能とする。マウス個体を生かしたまま、空間分解能を損なうことなく大脳表面から 0.9mm 以上の深部の断層像が取得でき、生きた大脳皮質全体を可視化する。(鍋倉淳一教授との共同研究)。

**Figure 1. “*In vivo*” two-photon microscopy.** The superior tissue penetration of our newly constructed “*in vivo*” two-photon microscopy can visualize neural activities in a living brain. EYFP fluorescence can be detected from deeper layers than 0.9 mm beneath the surface in an anaesthetized mouse. 3D-reconstruction of individual neural cells spreading in the layers I-V is available without any degradation of the spatial resolution of sub-micron. (Collaborative research with Prof. J. Nabekura)

## Research works

### i) Two-photon Microscopy Imaging Group

In order to support international or domestic collaborative researches, we have developed the most advanced “two-photon microscopy”. The microscopy has given us important insights into secretory functions in neural and secretory gland cells. We have especially proved the existence of “sequential compound exocytosis”. We explore two-photon microscopy by incorporation of molecular biology, patch-clamp, photo-activated probes, and non-linear optics techniques. The final goal is to reveal “missing-links” underlying between molecular, cellular, and physiological functions of human bodies (Figs. 1- 3).

### ii) Computer & Network Group

Computing and network support are indispensable for research activity. In this section, we have a HP ES45 system for data analyses and simulation and two technical staffs support high-speed and reliable network and peripheral device for in-house information service, high-quality digital color printing, etc. Technological developments for the best use of these facilities are also underway (Figs. 4, 5).

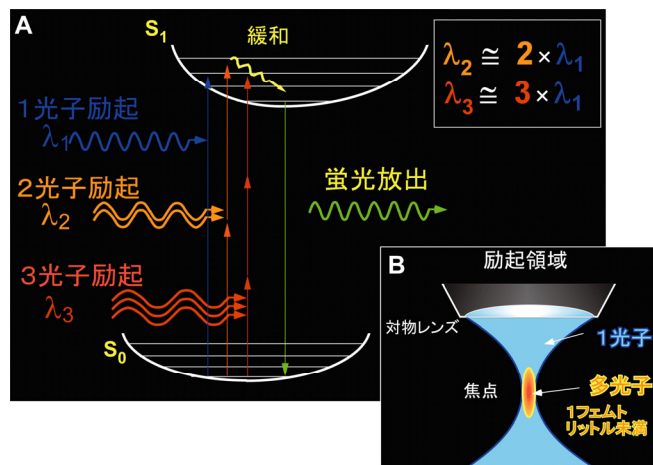


図2. 多光子励起とは、フェムト秒の近赤外レーザーパルス光を対物レンズで集光することにより、1 個の分子が同時に、複数個の光子を吸収し第一電子励起状態へ遷移する現象である(A)。多光子吸収は焦点でしか起きないので、焦点以外での無駄な吸収が無い上(B)、深部到達性が高く、レーザーを走査することで断層像が取得できる。従って、生体臓器標本における分子・細胞機構を調べるのに最善の方法論である。多光子励起を用いた顕微鏡法(2 光子顕微鏡)は、医・生物学に応用されてからまだ間がなく、その可能性の一部しかまだ使われていないことも魅力の一つである。今後、2 光子顕微鏡はその高い定量性と空間解像によって、微小電極やパッチクランプ法と肩を並べる方法論になると我々は考える。

**Figure 2. Multi-photon excitation process.** By using near infrared femto-second laser, multi-photon excitation of molecules can be elicited by simultaneous absorption of photons (A) at the focal point of an objective lens (B). Two-photon excitation imaging (two-photon microscopy) has deeper tissue penetration, little out-of-focal light absorption and least phototoxic effects. It is thus quite suitable for investigating molecular and cellular events within thick intact tissues. Moreover, it allows simultaneous multi-color imaging and fluorescence correlation measurement. The fusion

pore opening and its dynamics can be resolved of a nanometer order (*Nature Cell. Biol.*, 3: 253, 2001, *Science*, 297:1349, 2002).

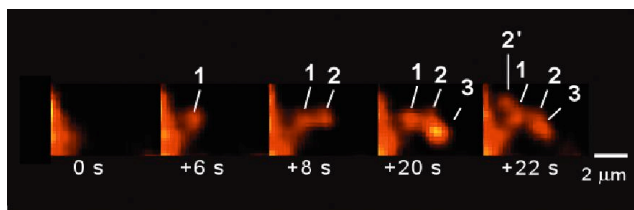


図3. 「逐次開口放出」の発見。2 光子顕微鏡を用いた開口放出の定量的測定法を確立した。この方法論は、観察する平面内のすべての開口放出を検出し、融合細孔の動態をナノメーター(1-20nm)の解像で測定でき、また、すべての分泌臓器に適用可能である。この手法を用いることにより、小胞の動員が逐次的に細胞内に進む様式があることが明らかとなった。この様式は様々な細胞、組織で確認されており、極めて一般性が高い。

**Figure 3. The discovery of “sequential compound exocytosis”.** Two-photon microscopy has demonstrated sequential progression of exocytosis deep into the cytosol in exocrine glands. Such sequential compound exocytosis is now considered as used commonly for physiological secretions in a wide variety of cells and organs (*Nature Cell. Biol.*, 3:253, 2001, *EMBO J*, 25:673, 2006).



図4. 生体情報解析システム

**Figure 4. Computer System for Data Analysis in Physiology**



図5. ネットワークサーバ群

**Figure 5. Network servers**