

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：12401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26640002

研究課題名(和文)抑制性のシナプス学習過程を検出可能な新規シナプスクロライドプローブの開発

研究課題名(英文)Development of a novel chloride probe aiming at detecting inhibitory synaptic inputs

研究代表者

大倉 正道(OHKURA, Masamichi)

埼玉大学・理工学研究科・准教授

研究者番号：70369172

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：神経細胞のシナプスへの抑制性入力による抑制性シナプス後電位(IPSP)は一過性に細胞内Cl<sup>-</sup>濃度上昇を起こすが、これまでIPSPによるCl<sup>-</sup>上昇は可視化されていない。本研究ではIPSPの可視化を目指し、蛍光Cl<sup>-</sup>プローブのプロトタイプを遺伝子工学的に作製し、高い反応性を備えたプローブを選抜した。その結果、Cl<sup>-</sup>濃度変化での蛍光変化量が大きいプローブを見出した。蛍光変化量が大きいプローブは神経細胞に発現させ、抑制性入力での蛍光応答の大きさを指標として細胞での性能を評価した。

研究成果の概要(英文)：Increases in intracellular chloride ion concentrations of neurons following inhibitory postsynaptic potentials (IPSPs) have not been visualized to date. In this study, aiming at detecting IPSPs, we developed a genetically encoded chloride probe with high responsivity. The probe showed a fairly large fluorescence change in response to chloride in vitro. Then we expressed the probe in neuronal cells and assessed its functionalities, focusing on responses to inhibitory inputs.

研究分野：分子生理学

キーワード：神経科学 神経活動 抑制性シナプス クロライドプローブ 蛍光イメージング

### 1. 研究開始当初の背景

GFP や RFP 等の蛍光蛋白質を用いた  $Ca^{2+}$  プローブにより *in vivo* での神経細胞のスパイク活動を可視化する研究が普及してきたが、最近では興奮性のスパイク活動にとどまらず抑制性の入力活動である抑制性シナプス後電位 (IPSP) を可視化するニーズが高まってきた。抑制性の伝達物質である GABA やグリシンはその受容体を刺激して細胞内局所  $Cl^-$  濃度を一過性に増大させる。従来から神経細胞の IPSP を検出する目的で、神経細胞の膜電位変化や細胞内  $Cl^-$  濃度変化を記録する手法がよく用いられてきた。膜電位変化を記録する場合、微小電極法やパッチクランプ法などの電気生理学的な手法を用いると約 1 ミリ秒の速い IPSP 変化を正確に記録することは可能であるが、空間的な観察は非常に難しい。また同時に記録できる神経細胞の数に限界がある。別法として、膜電位感受性色素の使用で速い変化の検出が可能となるが、IPSP の検出はかなり難しい。また色素は、不特定多数の細胞を染色するため、膜電位変化が記録された細胞の特定に解析上の工夫を要するという問題があった。そこで、特定の細胞の IPSP の可視化を目指した蛍光  $Cl^-$  プローブ蛋白質が開発されてきた。

### 2. 研究の目的

神経細胞のシナプスへの抑制性入力による IPSP は一過性に細胞内  $Cl^-$  濃度上昇を起こすが、これまで IPSP による  $Cl^-$  上昇は可視化されていない。本研究では IPSP の可視化を目指し、高い反応性を備えた蛍光  $Cl^-$  プローブを作製することを目的としている。

### 3. 研究の方法

#### (1) 蛍光 $Cl^-$ プローブの cDNA の作製 :

分子生物学的方法を用いて、我々独自の改変 GFP cDNA と  $Cl^-$  結合蛋白質の cDNA を結合させ、大腸菌の発現ベクターに組み込んだ。また、PCR を用いた random mutagenesis により改変 GFP や  $Cl^-$  結合ドメインの cDNA にさらなる変異導入を行った。配列は制限酵素による解析および DNA シーケンスにより確認を行った。また蛋白質の精製を容易にするためプローブには His tag を付加した。

#### (2) 大腸菌での発現と *in vitro* 性能評価 :

作製した cDNA を大腸菌に発現させ、蛋白質発現を誘導した。目的の蛋白質は His tag を持っているため、His tag 用のアフィニティービーズを用いて精製した。 $Cl^-$  依存的な蛍光変化量の大きいプローブ蛋白質については、蛍光分光光度計および分光光度計を用いて  $Cl^-$  濃度変化に対する蛍光変化量、Kd、ヒル係数、モル吸光係数、量子効率を測定した。

#### (3) 培養神経細胞での性能評価 :

*In vitro* 性能評価で選抜されたプローブを培養神経細胞に発現させ、微小な過分極での

蛍光応答の大きさを指標として、これらの IPSP の検出に有望な  $Cl^-$  プローブをさらに絞り込んだ。これにより、(2) から期待される性能が培養神経細胞レベルでも再現できるか確認した。具体的には、分子生物学的手法により有望な  $Cl^-$  プローブのプロトタイプを cDNA を動物細胞発現ベクターに組み込んだ。作製した DNA を培養神経細胞にリポフェクション法により導入した。 $Cl^-$  プローブのプロトタイプと GABA<sub>A</sub> 受容体またはグリシン受容体を同時に発現させた培養神経細胞をアゴニスト溶液 (IPSP 程度の過分極を起こす濃度の GABA またはグリシンを含有する灌流液) で刺激し、その際の蛍光変化を蛍光顕微鏡を用いて測定した。

### 4. 研究成果

$Cl^-$  結合蛋白質を  $Cl^-$  感受性素子として活用しながら、我々独自の改変 GFP cDNA を基に  $Cl^-$  プローブのプロトタイプ群を遺伝子工学的に作製した。その結果、 $Cl^-$  濃度変化での蛍光変化量が大きいプローブを見出した (図 1)。

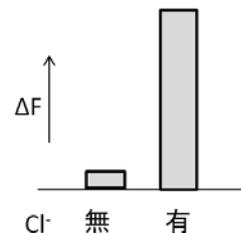


図 1 精製した  $Cl^-$  プローブの蛍光変化

蛍光変化量が大きいプローブは神経細胞に発現させ、GABA 受容体やグリシン受容体の刺激での蛍光応答を指標として細胞での性能を評価した結果、受容体刺激に伴って一過性に蛍光上昇を示すことを見出した (図 2)。

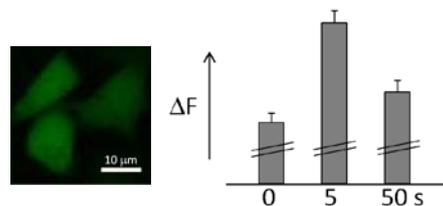


図 2 プローブ発現細胞 (左) へのグリシン投与による蛍光変化 (右)

この有望なプローブは、これまで作製したプローブの変異部分を種々の組み合わせでシャッフルすることにより、また PCR を用いた random mutagenesis を行うことにより、さらなる改良を進めている。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

1. Monai H, Ohkura M, Tanaka M, Oe Y, Konno

- A, Hirai H, Mikoshiba K, Itohara S, Nakai J, Iwai Y, Hirase H: Calcium imaging reveals glial involvement in transcranial direct current stimulation-induced plasticity in mouse brain. *Nature Communications* **7**:11100, 1-10 (2016). DOI: 10.1038/ncomms11100. 査読有
2. Sato T, Ishikawa M, Mochizuki M, Ohta M, Ohkura M, Nakai J, Takamatsu N, Yoshioka K: JSAP1/JIP3 and JLP regulate kinesin-1-dependent axonal transport to prevent neuronal degeneration. *Cell Death and Differentiation* **22**(8), 1260-1274 (2015). DOI: 10.1038/cdd.2014.207. 査読有
  3. Manita S, Suzuki T, Homma C, Matsumoto T, Odagawa M, Yamada K, Ota K, Matsubara C, Inutsuka A, Sato M, Ohkura M, Yamanaka A, Yanagawa Y, Nakai J, Hayashi Y, Larkum ME, Murayama M: A top-down cortical circuit for accurate sensory perception. *Neuron* **86**(5), 1304-1316 (2015). DOI: 10.1016/j.neuron.2015.05.006. 査読有
  4. Sato M, Kawano M, Ohkura M, Gengyo-Ando K, Nakai J, Hayashi Y: Generation and imaging of transgenic mice that express G-CaMP7 under a tetracycline response element. *PLoS One* **10**(5):e0125354, 1-13 (2015). DOI: 10.1371/journal.pone.0125354. 査読有
  5. Podor B, Hu Y, Ohkura M, Nakai J, Croll R, Fine A: Comparison of genetically encoded calcium indicators for monitoring action potentials in mammalian brain by two-photon excitation fluorescence microscopy. *Neurophotonics* **2**(2):021014, 1-7 (2015). DOI: 10.1117/1.NPh.2.2.021014. 査読有
  6. Inoue M, Takeuchi A, Horigane SI, Ohkura M, Gengyo-Ando K, Fujii H, Kamiyo S, Takemoto-Kimura S, Kano M, Nakai J, Kitamura K, Bito H: Rational design of a high-affinity, fast, red calcium indicator R-CaMP2. *Nature Methods* **12**, 64-70 (2015). DOI: 10.1038/nmeth.3185. 査読有
  7. Gamoh S, Kanai T, Tanaka-Totoribe N, Ohkura M, Kuwabara M, Nakamura E, Yokota A, Yamasaki T, Watanabe A, Hayashi M, Fujimoto S, Yamamoto R: Water-soluble jack-knife prawn extract inhibits 5-hydroxytryptamine-induced vasoconstriction and platelet aggregation in humans. *Food Funct* **6**, 444-449 (2015). DOI: 10.1039/C4FO00716F. 査読有
  8. Hira R, Ohkubo F, Masamizu Y, Ohkura M, Nakai J, Okada T, Matsuzaki M: Reward-timing-dependent bidirectional modulation of cortical microcircuits during optical single-neuron operant conditioning. *Nature Communications* **5**:5551, 1-12 (2014). DOI: 10.1038/ncomms6551. 査読有
  9. Suzuki J, Kanemaru K, Ishii K, Ohkura M, Okubo Y, Iino M: Imaging intraorganellar Ca<sup>2+</sup> at subcellular resolution using CEPIA. *Nature Communications* **5**:4153, 1-13 (2014). DOI: 10.1038/ncomms6551. 査読有
- [学会発表] (計 38 件)
1. 山下哲, 犬東歩, Srikanta Chowdhury, 中井淳一, 大倉正道, 田口徹, 桑木共之, 山中章弘: 意識下活動動物からの特定神経活動記録法の開発. 第93回日本生理学会大会, 2016年03月22日~2016年03月24日, 札幌コンベンションセンター(北海道札幌市).
  2. 小泉協, 佐藤正晃, 大倉正道, 中井淳一, 林康紀, 八尾寛: 光刺激・計測によるマウス大脳皮質層間信号統合の *in vivo* 解析. 第93回日本生理学会大会, 2016年03月22日~2016年03月24日, 札幌コンベンションセンター(北海道札幌市).
  3. 大倉正道, Borbala Podor, Yi-ling Hu, Roger Croll, Alan Fine, 中井淳一: 2光子イメージング法での神経発火活動の検出に適した蛍光カルシウムプローブ蛋白質の比較検討. 第89回日本薬理学会年会, 2016年03月09日~2016年03月11日, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市).
  4. 鈴木純二, 金丸和典, 石井邦明, 大倉正道, 大久保洋平, 飯野正光: タンパク質型Ca<sup>2+</sup>インジケーターCEPIAを用いた細胞小器官Ca<sup>2+</sup>シグナルの可視化と機能解析. 第89回日本薬理学会年会, 2016年03月09日~2016年03月11日, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市).
  5. 小泉協, 佐藤正晃, 中井淳一, 大倉正道, 林康紀, 八尾寛: 生体内光刺激・計測によるマウス大脳皮質層間信号統合の可視化. 生理研研究会「シナプス・神経ネットワークの機能ダイナミクス」, 2015年12月02日~2015年12月03日, 生理学研究所(愛知県岡崎市).
  6. 茂木優貴, 安藤恵子, 沖篤志, 岩井陽一, 毛内拓, 平瀬肇, 大倉正道, 中井淳一: G-CaMP7発現マウス大脳皮質脳細胞活動の細胞-領野スケール長期イメージング実験解析法. 第38回日本分子生物学会年会,

- 2015年12月01日～2015年12月04日, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市).
7. Masatoshi Inoue, Atsuya Takeuchi, Shin-ichiro Horigane, Hajime Fujii, Satoshi Kamijo, Sayaka Takemoto-Kimura, Masamichi Ohkura, Keiko Gengyo-Ando, Masanobu Kano, Junichi Nakai, Kazuo Kitamura, Haruhiko Bito: Rational design of ultrafast, high-affinity calcium indicators for monitoring neuronal activity. *Neuroscience 2015(国際学会)*, 2015年10月17日～2015年10月21日, McCormick Place (Chicago, USA).
  8. Masatoshi Inoue, Atsuya Takeuchi, Shin-ichiro Horigane, Hajime Fujii, Satoshi Kamijo, Sayaka Takemoto-Kimura, Masamichi Ohkura, Keiko Gengyo-Ando, Masanobu Kano, Junichi Nakai, Kazuo Kitamura, Haruhiko Bito: Rational design of a novel high-affinity, ultrafast, red calcium indicator R-CaMP2. *第58回日本神経化学大会*, 2015年09月11日～2015年09月13日, 大宮ソニックシティ(埼玉県さいたま市).
  9. Daniel Gomez-Dominguez, Kotaro Mizuta, François Laurent, Masaaki Sato, Takashi Takekawa, Masamichi Ohkura, Junichi Nakai, Tomoki Fukai, Yasunori Hayashi, Liset Menendez de la Prida: Slow frequency modulation of hippocampal theta oscillations as a carrier for encoding in a spatial-cued running task in rodents. *16th National Congress of the Spanish Society of Neuroscience (国際学会)*, 2015年09月23日～2015年09月25日, Palacio de Congresos de Granada (Granada, Spain).
  10. 宇高光, 福田武司, 鈴木美穂, 大倉正道, 中井淳一, 鎌田憲彦: 生細胞イメージングに向けた抗CD3抗体結合CdSe/ZnS量子ドットのエンドサイトーシスの検討. *第24回日本バイオイメーjing学会学術集会*, 2015年09月26日～2015年09月28日, 東京理科大学葛飾キャンパス(東京都葛飾区).
  11. Manita S, Suzuki T, Homma C, Matsumoto T, Odagawa M, Yamada K, Ota K, Matsubara C, Inutsuka A, Sato M, Ohkura M, Yamanaka A, Yanagawa Y, Nakai J, Hayashi Y, Larkum ME, Murayama M: Cortical top-down inputs for precise sensory perception in mice. *第38回日本神経科学大会シンポジウム*, 2015年07月28日～2015年07月31日, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市).
  12. Matsuda K, Yoshida M, Asakawa K, Ohkura M, Nakai J, Kawakami K, Hibi M, Shimizu T: Roles of zebrafish cerebellar neural circuitry in classical fear conditioning. *第38回日本神経科学大会*, 2015年07月28日～2015年07月31日, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市).
  13. Inoue M, Takeuchi A, Horigane S, Ohkura M, Gengyo-Ando K, Fujii H, Kamijo S, Takemoto-Kimura S, Kano M, Nakai J, Kitamura K, Bito H: Rational design of a novel high-affinity, ultrafast, red calcium indicator R-CaMP2. *第38回日本神経科学大会*, 2015年07月28日～2015年07月31日, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市).
  14. Mizuta K, Sato M, Sekine Y, Kawano M, Tanvir I, Masumoto T, Ohkura M, Nakai J, Hayashi Y: Selective representation of a valued place in hippocampal CA1. *第38回日本神経科学大会*, 2015年07月28日～2015年07月31日, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市).
  15. Nakai J, Ohkura M, Kagawa-Nagamura Y, Muto A, Inoue M, Bito H, Kawakami K, Gengyo-Ando K: Real-time visualization of neuronal activity in zebrafish and *C. elegans*. *第38回日本神経科学大会シンポジウム(招待講演)*, 2015年07月28日～2015年07月31日, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市).
  16. 茂木優貴, 安藤恵子, 沖篤志, 岩井陽一, 毛内拓, 平瀬肇, 大倉正道, 中井淳一: G-CaMP7を大脳皮質に発現するマウスを用いた神経活動のマイクロマクロ解析法. *第132回日本薬理学会関東部会*, 2015年07月04日～2015年07月04日, 明海大学浦安キャンパス(千葉県浦安市).
  17. Takeo Horie, Masamichi Ohkura, Yasunori Sasakura, Takehiro G. Kusakabe, Junichi Nakai, Michael S. Levine, Masashi Nakagawa: Structural and physiological analysis of neural circuit for swimming locomotion of the larva of *Ciona intestinalis*. *8th International Tunicate Meeting (国際学会)*, 2015年07月13日～2015年07月17日, リンクスステーションホール青森(青森県青森市).
  18. Suzuki J, Kanemaru K, Ishii K, Ohkura M, Okubo Y, Iino M: Imaging intraorganellar  $Ca^{2+}$  at subcellular resolution using CEPIA. *New Biological Frontiers Illuminated by Molecular Sensors and Actuators (国際学会)*, 2015年06月28日～2015年07月01日, GIS Convention Center at National Taiwan University (Taipei, Taiwan).
  19. 大倉正道, 中井淳一: G-CaMP開発の現状とイメージング技術への応用. *新学術領*

- 域研究「マイクロ精神病態」公募研究キックオフミーティング (招待講演), 2015年6月11日～2015年6月11日, 東京農業大学世田谷キャンパス (東京都世田谷区) .
20. 井上昌俊, 竹内敦也, 堀金慎一郎, 大倉正道, 安藤恵子, 藤井哉, 上條諭志, 竹本-木村さやか, 狩野方伸, 中井淳一, 喜多村和郎, 尾藤晴彦: 高感度、超高速赤色カルシウムインディケータの合理的設計による開発. 第92回日本生理学会大会, 2015年3月21日～2015年3月23日, 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市) .
  21. 真仁田聡, 鈴木崇之, 本間千尋, 松元崇, 小田川摩耶, 山田一之, 太田桂輔, 松原智恵, 犬束歩, 佐藤正晃, 大倉正道, 山中章弘, 柳川右千夫, 中井淳一, 林康紀, Matthew E. Larkum, 村山正宜: マウス皮質において正確な知覚に必要なトップダウン制御のメカニズム. 第92回日本生理学会大会, 2015年3月21日～2015年3月23日, 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市) .
  22. 水田恒太郎, 佐藤正晃, 関根友紀子, 河野真子, イスラムタンビル, 大倉正道, 中井淳一, 林康紀: 海馬CA1における価値表現の選択的保持. 第92回日本生理学会大会, 2015年3月21日～2015年3月23日, 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市) .
  23. 井上昌俊, 竹内敦也, 堀金慎一郎, 大倉正道, 安藤恵子, 藤井哉, 上條諭志, 竹本-木村さやか, 狩野方伸, 中井淳一, 喜多村和郎, 尾藤晴彦: 高感度、超高速赤色カルシウムインディケータの合理的設計による開発. 第88回日本薬理学会年会, 2015年3月18日～2015年3月20日, 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市) .
  24. 鈴木純二, 金丸和典, 石井邦明, 大倉正道, 大久保洋平, 飯野正光: タンパク質型Ca<sup>2+</sup>インジケータCEPIAを用いた小胞体・ミトコンドリア内腔Ca<sup>2+</sup>動態の可視化と機能解析. 第88回日本薬理学会年会, 2015年3月18日～2015年3月20日, 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市) .
  25. 中井淳一, 大倉正道, 安藤恵子: 蛍光カルシウムタンパクG-CaMPによる *in vivo*カルシウムイメージング. 東京理科大学総合研究機構イメージングフロンティア研究部門 2014年度シンポジウム (招待講演), 2014年12月20日～2014年12月20日, 東京理科大学野田キャンパス (千葉県野田市) .
  26. 藤泰一, 高橋尚也, 安藤恵子, 大倉正道, 中井淳一, 西垣功一: 個体 (線虫) レベルでの超多並列刺激応答モニターシステム, 第37回日本分子生物学会年会, 2014年11月25日～2014年11月27日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市) .
  27. Carta S, Chen J, Voigt F, Schneider B, Ohkura M, Nakai J, Helmchen F: Imaging deep-layer neuronal activity in mouse barrel cortex using 1040-nm excitation of a red fluorescent-protein calcium indicator. *Neuroscience 2014 (国際学会)*, 2014年11月15日～2014年11月19日, Walter E. Washington Convention Center (Washington DC, USA) .
  28. Podor B, Zhao Y, Wu J, Hu Y, Ohkura M, Nakai J, Campbell R, Croll R, Fine A: A comparative study of the two-photon performance of GCaMPs and GECOs. *Neuroscience 2014 (国際学会)*, 2014年11月15日～2014年11月19日, Walter E. Washington Convention Center (Washington DC, USA) .
  29. 大倉正道, 小林千晃, 貞苺純子, 佐々木拓哉, 池谷裕二, 中井淳一: 神経細胞内局所カルシウム動態の可視化を目指した高感度シナプスカルシウムプローブG-CaMP6-actinの応用. 第87回日本生化学会大会, 2014年10月15日～2014年10月18日, 国立京都国際会館 (京都府京都市) .
  30. Monai H, Ohkura M, Tanaka M, Itohara S, Nakai J, Iwai Y, Hirase H: Visualization of cerebral calcium dynamics by a transgenic mouse that express G-CaMP7 in neurons and glia. 第37回日本神経科学大会, 2014年9月11日～2014年9月13日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市) .
  31. Hira R, Ohkubo F, Masamizu Y, Ohkura M, Nakai J, Okada T, Matsuzaki M: Single-neuron operant conditioning by two-photon imaging induces reward-timing-dependent modulation in cortical microcircuit. 第37回日本神経科学大会, 2014年9月11日～2014年9月13日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市) .
  32. 真仁田聡, 鈴木崇之, 本間千尋, 松元崇, 小田川摩耶, 山田一之, 太田桂輔, 松原智恵, 犬束歩, 佐藤正晃, 大倉正道, 山中章弘, 柳川右千夫, 中井淳一, 林康紀, Matthew E. Larkum, 村山正宜: 大脳皮質におけるトップダウン回路の構造と機能. 第37回日本神経科学大会, 2014年9月11日～2014年9月13日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市) .
  33. 堀江健生, 大倉正道, 日下部岳広, 中井淳一, 中川将司: ホヤ幼生の遊泳運動神経回路の構造と生理機能の解析. 日本動物学会第85回大会, 2014年9月11日～2014

年9月13日, 東北大学川内北キャンパス  
(宮城県仙台市) .

34. 民山浩輔, 清水正宏, 宮坂恒太, 小椋利彦, 中井淳一, 大倉正道, 細田耕: 細胞触覚センサのための小型蛍光観察システムの開発. 第32回日本ロボット学会学術講演会, 2014年9月4日~2014年9月6日, 九州産業大学(福岡県福岡市) .
35. 大倉正道: Ca<sup>2+</sup>イメージング. 第39回組織細胞化学講習会(招待講演), 2014年8月6日~2014年8月8日, ピアザ淡海(滋賀県大津市) .
36. Oe Y, Ozawa K, Takata N, Nagai T, Konno A, Ohkura M, Hirai H, Nakai J, Mikoshiba K, Hirase H: Cerebral blood flow modulation by basal forebrain or whisker stimulation can occur independently of large cytosolic Ca<sup>2+</sup> signaling in astrocytes. 9th FENS Forum of Neuroscience (国際学会), 2014年7月5日~2014年7月9日, MiCo (Milan, Italy) .
37. Hira R, Ohkubo F, Masamizu Y, Ohkura M, Nakai J, Okada T, Matsuzaki M: Single-neuron operant conditioning by two-photon imaging induces reward-timing-dependent bidirectional modulations in cortical microcircuit. 9th FENS Forum of Neuroscience (国際学会), 2014年7月5日~2014年7月9日, MiCo (Milan, Italy) .
38. Ohkura M, Kobayashi C, Sadakari J, Sasaki T, Ikegaya Y, Nakai J: Imaging subcellular Ca<sup>2+</sup> dynamics of neurons with a highly responsive genetically encoded Ca<sup>2+</sup> indicator. 9th FENS Forum of Neuroscience (国際学会), 2014年7月5日~2014年7月9日, MiCo (Milan, Italy) .

[図書] (計3件)

1. Ohkura M, Sadakari J, Nakai J: Optogenetic manipulation and probing. 『Optogenetics: light-sensing proteins and their applications』Part 2, Chapter 9, Springer, (2015) 409 (133-148) .
2. 大倉正道, 中井淳一: 高感度Ca<sup>2+</sup>プローブG-CaMPを用いた脳内シナプス活動のイメージング. 『脳内環境-恒常性維持機構の破綻と病気』, (株)メディカルドゥ, (2014) 220 (108-113) .
3. 大倉正道, 中井淳一: Ca<sup>2+</sup>プローブG-CaMPイメージング. 『組織細胞化学2014』, 日本組織細胞化学会, (2014) 230 (161-168) .

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: カルシウム指示遺伝子  
発明者: 尾藤晴彦, 井上昌俊, 竹内敦也, 中井淳一, 大倉正道  
権利者: 独立行政法人科学技術振興機構  
種類: 特許  
番号: 特願 2014-120828  
出願年月日: 平成 26 年 6 月 11 日  
国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等  
埼玉大学 研究機構 脳末梢科学研究センター  
<http://subsi.saitama-u.ac.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大倉 正道 (OHKURA, Masamichi)  
埼玉大学・理工学研究科・准教授  
研究者番号: 70369172