طراحی و ساخت اپتورود بر پایه میکروجابه جاگر موتوردار جهت ثبت سیگنال تک واحدی نورون برای کاربردهای اپتوژنتیک

مهناز اسداله سلمان پور[۱]، محمد اسماعیل زیبائی[۱*]و حمید لطیفی[۱]
عباس حق پرست[۲]، لیلا درگاهی[۲]، عبدالعزیز رونقی [۲]و زهرا فتاحی[۲]
[۱]پژوهشکده لیزر وپلاسما دانشگاه شهید بهشتی،اوین-بلوار دانشجو، تهران
[۲] مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

***چکیده:** جهت استفاده از تکنیک اپتوژنتیک برای کنترل حلقه-بسته بیماری های عصبی نیاز به طراحی و ساخت سیستم های اپتیکی و الکتریکی جهت تحریک و ثبت همزمان با قابیت قرارگرفتن و ثابت شدن بر روی جمجمه می باشد. میکرودرایوها سیستم های الکتریکی و اپتیکی هستند که بر روی جمجمه حیوان ثابت می شوند و می توان بدون ایجاد اختلال در رفتار حیوان از الکترود های استفاده شده در این سیستم ها جهت ثبت فعالیت نورونی استفاده کرد. همچنین می توان بر روی این سیستم از فیبر نوری جهت تحریک نوری هم زمان استفاده کرد بنابراین می توان به عنوان اپتورود در سیستم های کنترلی حلقه-بسته جهت بیماری های عصبی با استفاده از تکنیک اپتوژنتیک استفاده کرد. در این مقاله اپتورود بر پایه میکروجابجاگر موتوردار طراحی و ساخته شده است و برای ثبت واحد تک واحدی نورون در حیوان بیهوش مورد استفاده قرار گرفته است.*

کلید واژه- اپتوژنتیک، اپتورود، ثبت تک واحدی، میکروجابه جاگر موتور دار، نورون

Design and fabrication a motorized Microdrive optrode for single-unit recording for optogenetics applications

Mahnaz Asadolah Salmanpour[1], Mohammad Ismail Zibaii[1,*], Hamid Latifi[1]
Abbas Haghparast[2], Leila Dargahi[2], Abdolaziz Ronaghi[2], Zahra Fatahi [2]

[1] Laser and Plasma Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran

[2]Neuroscience Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran

Abstract- In order to use an optogenetic technique for controlling closed-loops of neurological diseases, it is necessary to design and fabricate an implantable optrode as an optical and electrical system for simultaneous optical stimulation and electrical recording from neural. Microdrive is electrical and optical system that fix on the rat skull and can be used to record neural activity without disturbing the behavior of the animal. It can also be used optical fiber for optical stimulation simultaneously, so it can be used as optrode in closed-loop control systems for neurological diseases based on optogenetic technique. In this paper, an optrode based on motorized microdrive was designed and fabricated. It was used for in-vivo single unit recording in an anesthetized rat.

Keywords: Optogenetics, optrode, motorized microdrive, single-unit recording, Neuron.

[Downloaded from www.opsi.ir on 2025-12-18]

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد

۱- مقدمه

توانایی تکنیک اپتوژنتیک در فعال سازی یا مهار یک جمعیت نورنی خاص بدون اینکه بر فعالیت جمعیت های نورونی مجاور آن تاثیر بگذارد منجر به ارائه ایده استفاده از این تکنیک در کنترل بیماری های علوم اعصاب مانند صرع و پارکینسون شده است. یکی از روشهای کنترل بیماریهای عصبی بر اساس پایش برخط سیگنالهای عصبی بر مبنای کنترل حلقه-بسته فعالیت شبکه های عصبی می باشد که با استفاده از تکنیک اپتوژنتیک می توان بصورت همزمان تحریک نوری و ثبت فعالیت سیگنال عصبی انجام داد. یکی از ابزارهای نوری مورد استفاده برای این منظور اپتورود می باشد که تلفیقی از تاری نوری و الکترودهای ثبت الکتروفیزیولوژی می باشد. با استفاده از الکترود فعالیت نورون های ناحیه هدف ثبت می شود و توسط یک سیستم کنترل کننده با فعالیت نورون های ناحیه هدف در حالت سالم مقایسه می شود و در صورت عدم تطابق، بر اساس میزان عدم تطابق، شدت نور لیزر توسط یک کنترل کننده محاسبه می شود. این شدت بهینه توسط فیبر نوری موجود در آپترود به نورون های هدف منتقل می شود[۱]. شماتیک فرآیند در شکل (۱) نشان داده شده است.

شکل ۱: شماتیک کنترل فعالیت های نورونی در حالت بیماری با استفاده از تکنیک اپتوژنتیک به صورت حلقه-بسته

بنابراین طراحی و ساخت سیستم های نوری و الکتریکی جهت تحریک و ثبت همزمان با قابلیت قرارگرفتن و ثابت شدن بر روی جمجمه ضروری می باشد. این سیستم ها باید به گونه ای باشند که کمترین اختلال را در رفتار طبیعی حیوان ایجاد کنند و دارای وزن کم نسبت به وزن حیوان باشند و همچنین به دلیل اینکه بیماری های های عصبی اغلب جمعیت های نورونی در لایه های مختلف مغزی را درگیر می کنند باید این سیستم ها توانایی تحریک و ثبت از چندین جمعیت نورونی در چند لایه را داشته باشند. به همین منظور باید موقعیت تار نوری و الکترود ها قابل تنظیم باشند به طوریکه بتوان از راه دور، میزان جابه جایی عمودی تارهای نوری و الکترود ها در بافت مغزی تنظیم کرد، که برای دستیابی به این امر نیاز به طراحی میکروجابه جاگرهای میکرونی می باشد[۲, ۳]. لذا در آزمایشگاه یک نمونه اپتورود با قابلیت جابجاگری میکرونی موتوردار طراحی و ساخته شده است که می تواند برای ثبت سیگنال تک واحدی خارج سلولی در سیستم عصبی مورد استفاده قرار گیرد.

۲- بخش تجربی

۲-۱- طراحی و ساخت میکروجا به جاگر موتوردار

جهت ثبت سیگنال های عصبی از تک نورون، الکترود باید در مجاورت نورون قرارگیرد و ابعاد نوک الکترود نیز باید از ابعاد نورون کوچکتر باشد. ابعاد نورون از ۴ تا ۱۰۰ میکرومتر متغیر می باشد. بنابراین ابعاد نوک الکترود باید کمتر از ۴ میکرومتر باشد. ابعاد نوک الکترود استفاده شده در این آزمایش ۲ میکرومتر می باشد که برای ثبت سیگنال مناسب از تک نورون، ایده آل می باشد. امپدانس نورونی از مرتبه ی ۱تا ۵ مگا اهم می باشد که امپدانس الکترود نیز از همین مرتبه می باشد[۴]. الکترود مورد استفاده در این میکروجابه گر از جنس تنگستن می باشد.

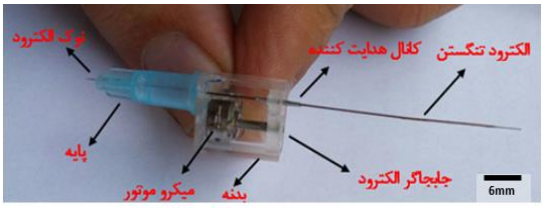
شکل ۲: تصویر قرار گرفتن الکترود ثبت تک واحدی در مجاورت سلول عصبی

در این طراحی برای هدایت و کنترل الکترود به داخل بافت مغزی از یک میکروموتور پله ای استفاده شده است. میزان جابه جایی این موتور در هر گام ۱۳/۵میکرومتر و توانایی جابه جایی عمودی الکترود در بافت مغزی به اندازه ۴ میلیمتر می باشد. برای ساخت بدنه نگهدارنده میکرو جابجاگر موتور دار از پلکسی گلس استفاده شده است و با استفاده از دستگاه CNC میکروماشین کاری شده است.

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد

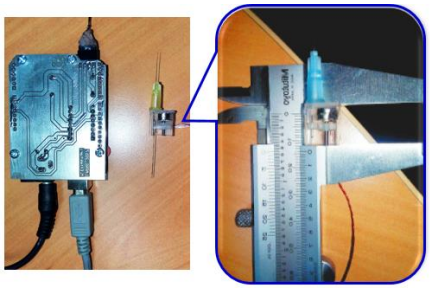
[Downloaded from www.opsi.ir on 2025-12-18]

بطوریکه بدنه و جابه جاگر الکترود به ترتیب دارای ضخامت های ۸ و ۲ میلیمتر می باشند. در شکل (۳) تصویر یک نمونه از میکروجابجاگر موتوردار با الکترود تنگستن نشان داده شده است.



شکل ۳: تصویر میکرو جابجاگر موتوردار ساخته شده در آزمایشگاه

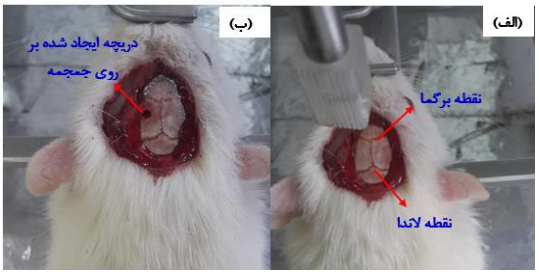
برای راه اندازی موتور پله ای نیاز به ساخت درایور می باشد. همچنین جهت محاسبه و کنترل میزان دقیق جابجایی عمودی الکترود نیاز به کنترل کامپیوتری می باشد. برای ایجاد این ارتباط و کنترل دقیق حرکت موتور پله ای نیاز به رابط های سخت افزاری و نرم افزاری می باشد. بدین منظور از برنامه های لب ویو وآردینو جهت ارتباط نرم افزاری و از میکروکنترلر unoR3 و رابط داریور ۸۸۲۵ جهت ارتباط سخت افزاری با کامپیوتر استفاده شد. در شکل (۴) تصویر مدار راه انداز موتور و میکروجابجاگر نشان داده شده است.



شکل ۴: تصویر مدار راه انداز میکروجابجاگر موتوردار.

۲-۲ آماده سازی حیوان و ثابت سازی میکروجابه جاگر بر روی جمجمه:

طبق استانداردهای اخلاق کار با حیوانات، ابتدا حیوان با استفاده از داروی کتامین/زایلازین بیهوش می شود. پس از بیهوشی، حیوان در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شد و با استفاده از میله های نگهدارنده سر حیوان، جمجمه حیوان ثابت می شود. برای بدست آوردن مختصات ناحیه هدف در داخل بافت مغزی مطابق شکل (۵) فاصله بین دو نقطه ی براگما و لاندا روی جمجمه اندازه گیری می شود و با استفاده از اطلس مغزی پاکسینوس، مختصات دقیق ناحیه هدف تعیین می گردد. در این آزمایش منطقه هیپوکمپ جهت ثبت سیگنال عصبی انتخاب شده است. علت انتخاب این منطقه داشتن سلولهای عصبی بزرگ با دامنه ی پتانسیل فعالیت بالا می باشد. پس مشخص کردن مختصات هیپوکمپ، با استفاده از مته ی دندان پزشکی جمجمه در آن نقطه سوراخ شده به طوری که لایه ی دورا مشخص شود. اندازه ی قطر روزنه ایجاد شده ۲میلیمتر و برابر با قطر انتهای پایه ی میکروجابجاگر می باشد. با نصب میکروجابجاگر بر روی دستگاه استریوتاکسی الکترود به ناحیه هدف نزدیک می شود و به داخل بافت مغزی فرو برده می شود و پس از رسیدن به ناحیه هدف، میکروجابجاگر با استفاده از سیمان دندانپزشکی بر روی جمجمه ثابت می شود. در شکل (۶) تصویر یک نمونه از کاشت میکروجابجاگر بر روی جمجمه نشان داده شده است.



شکل ۵: تصویر یک نمونه از جراحی موش صحرایی (الف) :برای دستیابی به جمجمه و مشخص نمودن نشانگرهای جمجمه جهت مختصه یابی مغز و (ب): ایجاد روزنه بر روی آن

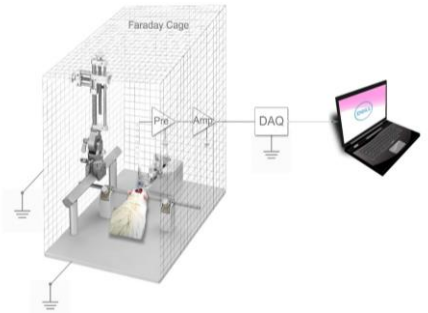
شکل ۶: تصویر ثابت سازی میکرو جابجاگر بر روی جمجمه حیوان بیهوش با استفاده از سیمان دندانپزشکی

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد

[Downloaded from www.opsi.ir on 2025-12-18]

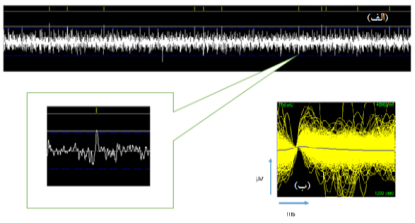
۲-۳- ثبت سیگنال عصبی از فعالیت تک واحدی سلول عصبی

به منظور کاهش نوفه عوامل محیطی، چیدمان مورد نظر درون قفسه ی فلزی فارادی قرار گرفته است. پس از انجام مراحل ثابت سازی میکروجابجاگر بر روی جمجمه، از یک فنر فلزی سبک به منظور اتصال الکترود به سیم تقویت کننده استفاده شده است. دستگاه تقویت کننده سیگنال های دریافت شده توسط الکترود را تقویت و با استفاده از کارت DAQ سیگنال آنالوگ را به دیجیتال تبدیل می نماید و در نهایت سیگنال های الکتریکی ثبت شده با استفاده از نرم افزار بر روی صفحه نمایش نشان داده می شود. در شکل (۷) شماتیک چیدمان آزمایش نشان داده شده است.



شکل ۷: شماتیک چیدمان کلی آزمایش

با راه اندازی موتور، الکترود به اندازه ی ۴۱۰ میکرومتر در بافت مغزی هدایت داده شد تا نوک الکترود در این ثبت در عمق ۳,۸۱۰ میلی متری از سطح جمجمه قرار گیرد که مربوط به ناحیه ی هیپوکمپ می باشد. ثبت به مدت ۲۰ دقیقه از این ناحیه انجام شده است. در شکل(۸) نتایج ثبت سیگنال تک واحدی خارج سلولی در ناحیه هیپوکمپ نشان داده شده است. دامنه ی اسپایک های ثبت شده در این ثبت ۱۵۷,۲۱ میکرو ولت می باشند. این نورون ناحیه ی هیپوکمپ در مدت بیست دقیقه ثبت، ۳۳۵۹۸ بار اسپایک انجام داده است. فعالیت نورون ها یک پدیده ی طبیعی و خودبه خودی می باشد بنابراین انتظار می رود که تابع توزیع آن، تابع توزیع نرمال باشدشکل(۲-۳). با راه اندازی دوباره سیستم نوک الکترود به عمق ۴,۰۸۰ میلی متری از سطح جمجمه و در ناحیه ی هیپوکمپ هدایت شد. به مدت۳۰ دقیقه از این ناحیه ثبت گرفته شد. شکل(۳-۳) نتایج ثبت تک واحدی در این منطقه را نشان می دهد.



شکل(۳-۳):(الف): نتایج ثبت فعالیت نورون هیپوکمپ (ب):برهم نهی تمام اسپایک ها بر روی یک محور

۳- نتیجه گیری

در این مقاله یک میکروجابه جاگر موتوردار به منظور ثبت سیگنال تک واحدی نورون طراحی و ساخته شده است که بدون نیاز به دستگاه استریوتاکسی الکترود با دقت در مجاورت یک سلول عصبی در حالت فعالیت خودبخودی قرار داده شده است. برای این منظور فقط با استفاده از دستگاه استریوتاکسی سیستم میکروجابجاگر بر روی جمجمه کاشته شده است و سپس میکروجابجاگر از روی دستگاه استریوتاکسی جدا شده است. با راه اندازی موتور، الکترود ثبت در عمق های مختلف مغز هدایت شده است و ثبت سیگنال از فعالیت عصبی در ناحیه هیپوکمپ انجام شده است. با استفاده از این سیستم می توان ثبت فعالیت عصبی تک واحدی در حیوان در حال حرکت انجام داد. علاوه بر این می توان با تلفیق این الکترود با تار نوری می توان برای سیستم اپتورود با قابلیت حرکت در کاربردهای اپتوژنتیک بمنظور تحریک نوری و ثبت سیگنال عصبی تک واحدی در تست های رفتاری از موش صحرائی استفاده نمود.

مراجع

[1] Selvaraj, P., et al., Closed-loop feedback control and bifurcation analysis of epileptiform activity via optogenetic stimulation in a mathematical model of human cortex. Physical Review E, vol. 93(1): p. 012416, 2016.

[2] Warden, M.R., J.A. Cardin, and K. Deisseroth, Optical neural interfaces. Annual review of biomedical engineering, vol. 16: pp. 103-129, 2014.

[3] Hasegawa, T., et al., A wireless neural recording system with a precision motorized microdrive for freely behaving animals. Scientific reports, vol. 5, pp. 7853, 2014.

[4] Robinson, D.A., The electrical properties of metal microelectrodes. Proceedings of the IEEE, vol. 56(6): pp. 1065-1071, 1968.

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد

[Downloaded from www.opsi.ir on 2025-12-18]