



Doctoral Thesis

Optical multisite recording of neural activity patterns in organotypic spinal cord tissue cultures

Author(s):

Rioul-Pedotti, Marc Guy

Publication Date:

1991

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000592318> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

**OPTICAL MULTISITE RECORDING OF
NEURAL ACTIVITY PATTERNS
IN ORGANOTYPIC SPINAL CORD
TISSUE CULTURES**

A thesis submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH
for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by
Marc Guy Rioult-Pedotti
Dipl. Natw. ETHZ
born 10th of July, 1957
citizen of Winterthur
and France

M. Anliker
22. Mai 1991

Accepted on the recommendation of
Prof. Dr. M. Anliker, examiner
Prof. Dr. H.R. Lüscher, co-examiner
Prof. Dr. P. Niederer, co-examiner

Cat E



1991



ABSTRACT

According to presently advocated concepts, the functions of the central nervous system are elicited by collective actions of large groups of cells rather than by activities of deterministic networks of small neuronal assemblies or by single neurons. This concept can not be tested in a straightforward manner with the aid of conventional electrophysiological methods which make use of intracellular electrodes allowing only single cell recordings. Hence, much effort has been invested to develop multisite recording techniques. One promising solution appears to be the optical recording of regional neuronal activity with potential sensitive dyes.

Based on experience with instrumentation utilized earlier for such a purpose a new experimental system has been developed and optimized for sensitivity regarding emitted signal intensity and speed of recording. The neural preparation examined consisted in a highly developed organotypic rat spinal cord slice cultures with attached dorsal root ganglion and skeletal muscle. This in vitro model preserves widely the neuronal network of the segmental motor system. The investigations were focussed on the cell types involved in the spinal reflex arc. Particular attention was given to the neurons responsible for the contraction of skeletal muscle. The cultures were stained with cell membrane bound fluorescent dyes which are sensitive to changes in the local electrical field (membrane potential). The changes in fluorescence were recorded with a 2D-array of 124 photodiodes placed in the image plane of an inverted microscope configured for epifluorescence. The optical signals together with single cell electrical recordings, were then amplified, digitized to 12 bit and stored on a computer mass storage device. Acquisition, control of the experiment and display of the acquired data on a CCD-TV image of the recording site of the preparation are all computer-controlled. The pertinent data are transferred to a PC AT for further analysis. The sensitivity of the method and the

signal-to-noise ratio of the signals recorded are sufficiently high to allow recordings of action potentials as well as synaptic potentials in dendrites from individual neurons without averaging. Allowing for simultaneous multisite recordings with an actual spatial resolution of 15 μm and a time resolution of the order of microseconds the method is superior to those utilizing conventional electrophysiology for studies of cooperative phenomena in groups of neurons.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Funktionen des Zentralnervensystems basieren, gemäss heute diskutierter Konzepte, im kollektiven Verhalten grosser Verbände von Nervenzellen, und nicht in deterministischen Schaltkreisen kleinster Neuronengruppen oder gar auf einzelne Nervenzellen. Dieses Konzept lässt sich nicht direkt mit konventionellen elektrophysiologischen Methoden überprüfen, da intrazellulär in der Regel nur von einer einzigen Nervenzelle registriert werden kann. Deshalb wird seit vielen Jahren nach Methoden gesucht, welche die simultane Registrierung der Aktivität von zahlreichen Nervenzellen erlaubt. Eine erfolgversprechende Technik besteht in der mikrofluorimetrischen Erfassung der regionalen neuronalen Aktivität mit Hilfe potentialsensitiver Farbstoffen.

Ausgehend von bislang verwendeten Apparaturen wurde eine neue Messeinrichtung entwickelt, gebaut und bezüglich Sensitivität für Fluoreszenzänderungen und Registriergeschwindigkeit optimiert. Als Untersuchungsobjekt diente eine hochentwickelte, organotypische Gewebekultur von Rattenrückenmark mit intakten Hinterwurzelganglien und Muskulatur. In diesem in vitro Modell ist das neurale Netzwerk der segmentalen Motorik weitgehend entwickelt. Untersucht wurden die am spinalen Reflexbogen beteiligten Nervenzellen, insbesondere die Neurone welche die koordinierte Kontraktion der Skelettmuskulatur steuert. Die Kulturen wurden mit zellmembrangebundenen, fluoreszierenden Farbstoffen gefärbt, deren Fluoreszenz vom lokalen elektrischen Feld (Membranpotential) abhängt. Die Fluoreszenzsignale wurden von einer in der Bildebene eines für Epifluoreszenz konfigurierten Umkehrmikroskopes angebrachten 2D-Photodiodenmatrix mit 124 Elementen registriert. Diese optischen Signale wurden, ergänzt durch Mikroelektrodenableitungen von einzelnen Zellen, verstärkt, digitalisiert und durch einen Computer erfasst. Die Datenerfassung, die automatische Kontrolle des Experimentes und die ortstreue Darstellung der Messdaten über ein parallel zu den Messungen aufgenommenes CCD-TV Bild des Messortes unmittelbar nach jeder Messung sind computergesteuert. Zur Analyse wurden die Messdaten auf einen PC AT transferiert wo sie dargestellt und bearbeitet wurden. Die Sensitivität der Methode und das Signal-zu-Rausch Verhältnis der erfassten Signale sind genügend hoch um sowohl Aktionspotentiale, als auch synaptische Potentiale in Dendriten einzelner Nervenzellen ohne Mittelwertbildung zu registrieren. Durch die gleichzeitigen multiplen Ableitungen mit einer räumlichen Auflösung von 15 μm und einer zeitlichen Auflösung im Bereich von Mikrosekunden erweist sich diese Methode der konventionellen Elektrophysiologie bei der Untersuchung kooperativer Phänomene in Verbände von Neuronen überlegen.