

Spatial organization of neural activity in a premotor area involved in song production in songbirds investigated using two-photon calcium imaging

Doctoral Thesis

Author(s):

Graber, Michael Hubert

Publication date:

2014

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010222472>

Rights / license:

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

DISS. ETH NO. 21751

SPATIAL ORGANIZATION OF NEURAL
ACTIVITY IN A PREMOTOR AREA
INVOLVED IN SONG PRODUCTION IN
SONGBIRDS INVESTIGATED USING
TWO-PHOTON CALCIUM IMAGING

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

MICHAEL HUBERT GRABER

Dipl. Natw. ETH

born on 05.04.1980

citizen of

Oberkirch, Luzern and Willisau, Luzern

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Richard H. R. Hahnloser

Prof. Dr. Fritjof Helmchen

Prof. Dr. Rainer W. Friedrich

2014

Zusammenfassung

Beim sensomotorischen Lernen wird die Veränderung von motorischen Programmen durch sensorischen Input gelenkt. Die funktionelle und strukturelle Beschaffenheit lokaler neuronaler Netzwerke könnte ein wichtiger Einflussfaktor dieses Prozesses sein. Sensomotorisches Lernen kann bei Singvögeln exemplarisch untersucht werden: Singvögel lernen einen komplexen Gesang. Ein substantieller Bestandteil des Hirns von Singvögeln ist in das Lernen und die Produktion des Gesangs, sowie in das Prozessieren auditorischer Stimuli involviert. HVC ist ein für die Produktion des Gesangs notwendiges prämotorisches Hirnareal in Singvögeln. HVC Neurone sind jedoch nicht nur für gesangsrelevante Motorprogramme verantwortlich, sie zeigen auch Antworten auf auditorische Stimulation in bemerkenswerter Weise; insofern als dass es HVC Neurone gibt welche die Aktivität während des Singens beim Hören des Gesangs spiegeln. Trotz unseres fortgeschrittenen und präzisen Wissens über die Aktivität von HVC, welches hauptsächlich von elektrophysiologischen Untersuchungen stammt, fehlt uns ein Verständnis der funktionellen und strukturellen Organisation von lokalen Netzwerken von HVC Zellen. Funktionelle Zwei-Photonen Mikroskopie hat sich als wertvolle Methode zur Untersuchung neuronaler Aktivität in lokalen neuronalen Netzwerken etabliert. Bis heute gibt es aber noch keine Studie in Singvögeln welche diese Methode verwendet.

Im Rahmen der vorliegenden Doktorarbeit haben wir ein Protokoll entwickelt welches es ermöglicht die Aktivität einer lokalen Population von HVC Neuronen optisch zu messen. Mit Hilfe eines synthetischen Kalzium-Indikators und der Verwendung von Zwei-Photonen-Mikroskopie ist es uns gelungen spontane Aktivität und Antworten auf auditorische Stimulation in verschiedenen HVC Zelltypen in anästhesierten und am Kopf fixierten Zebrafinken zu messen. Wir konnten Übereinstimmung unserer Messungen mit bekannten Resultaten aus Elektrophysiologie-Studien zeigen. Des Weiteren haben wir die lokale Korrelationsstruktur untersucht in Abhängigkeit verschiedener auditorischer Stimuli und konnten damit das Wissen über die lokale Organisation von HVC erweitern.

Zudem zeigen wir Resultate weiterer methodischer Teilprojekte: Wir haben die Verwendbarkeit von genetisch exprimierten Kalzium Indikator Proteinen in Zebrafinken untersucht und geringe Expression eines Indikators gefunden. Und wir haben erfolgreich wache Zebrafinken trainiert am Kopf fixiert zu sein und dabei zu singen.

Abstract

Sensorimotor learning is characterized by the refinement of motor programs through sensory input. Local functional and structural organization of neural networks might play a key role in the modifications taking place in periods of sensorimotor learning. An outstanding study system of sensorimotor learning are songbirds. Songbirds produce complex learned vocalizations. A notable part of the songbirds brain participates in processing auditory information and also in learning and producing the songbirds song. A key premotor brain area involved in song production is HVC (used as a proper name) in the posterior dorsal pallium. HVC neurons are not only involved in motor control, they also receive auditory input and shows remarkable auditory response properties mirroring the activity during song production. Despite the rather specific functional description of this critical brain area on a single cell level, gained mainly by electrophysiology, we lack understanding about its structural and functional organization on the level of local populations of cells. Combining in-vivo imaging with functional dyes recently proved to be a promising approach to study the functional and structural organization of populations of neurons. In songbirds however, no report of the successful application of this approach has been published up to date.

In this PhD we developed a protocol that allows to optically monitor neural activity from a local population of identified HVC cells in an anesthetized and head-fixed zebra finch. Using a synthetic calcium indicator we measured spontaneous activity and auditory evoked responses by the application of two-photon microscopy. We found our data to reproduce results reported from electrophysiology experiments. Additionally we investigated the local stimulus dependent correlation structure and by doing so extended our knowledge of local HVC activity patterns.

Furthermore we present additional experiments conducted to advance functional in-vivo imaging methods in zebra finches: We studied the use of genetically expressed calcium indicator proteins (GECIPs) in zebra finches and found expression of one particular indicator protein at very low levels. Finally we successfully trained birds for head fixation and head-fixed singing.