

DISS. ETH NO.25286

# Brain slice recordings on high-density microelectrode arrays, from single-unit activity tracking to network investigations

A thesis submitted to attain the degree of DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

Wei Gong

MSc. Neuroscience, Erasmus University Rotterdam, the Netherlands

born on 01.09.1984

citizen of People Republic of China

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Andreas Hierlemann

(andreas.hierlemann@bsse.ethz.ch)

Prof. Dr. Beat Gähwiler

(gahwiler@hifo.uzh.ch)

Dr. Frederic Knoflach

(frederic.knoflach@roche.com)

2018

# Abstract

Neurons are the smallest building blocks of the information processing system in the brain. They intercommunicate via electrical signals called action potentials (APs). From single-neuron APs to a functional brain module, information needs to be integrated across multiple network scales. Local field potentials (LFPs) summate electrical activity over a local neural network and can be detected simultaneously with APs in extracellular recordings. LFPs can propagate across neural networks via the respective neuronal connections to form oscillations. Brain oscillations play important roles in integrating information from individual neurons to the network level by increasing neuronal synchronization at specific moments. Many deficits in brain oscillations are correlated with brain diseases, epilepsy being one of those diseases. Brain slices are effective models to study neuronal activity at different levels because they largely preserve the neural circuits and local functions of the brain regions from which they were obtained. On the other hand, brain slices can also be cultured over weeks, thereby providing a comparably realistic environment to observe neuronal activity over extended durations. Recently developed complementary-metal-oxide-semiconductor-based microelectrode-array (CMOS-MEA) technology, featuring high spatial electrode density and a large array area, provides advantages in identifying and isolating AP signals from specific neurons, even within brain slices exhibiting high neuron density. Additionally, CMOS-MEAs enable to record extracellular activity across different network scales, from individual neuronal APs to LFPs propagating across larger network areas.

This thesis firstly reviews relevant scientific applications of existing CMOS-MEA technologies with a focus on applications in neuroscience research. The second part describes a label-free extracellular microelectrode-array-based method to track single-unit neuronal activity in organotypic hippocampal-slice cultures over weeks. The third part includes a method to investigate the spatiotemporal dynamics of epileptic seizures with initial AP and LFP activity emerging prior to the epileptic seizure onset and propagating as epilepsy oscillations across the slice regions. High-spatiotemporal-resolution electrical activity images were generated through the corresponding MEA recordings, and were used to track specific single-unit neuronal “footprints” over weeks, and to observe AP-LFP activity during epileptic seizures.

The results show that (1) single-unit neuronal activity remains relatively stable within organotypic slice environments, which confirms the possibility to study chronic impacts of pharmacological or genetic modifications on individual neurons within slice preparations; (2) epileptic seizures most likely originate from the hippocampal cornu ammonis 3 (CA3) regions and that increased electrical activity starts a few hundred milliseconds before epileptic seizure onset. Additionally, the regions affected by seizure activity remained consistent during seizure propagations. These observations demonstrate the potential of the new method to investigate the dynamics of epileptic seizures with detailed spatiotemporal information on electrical activity and promote future research on initiation of epileptic seizures and epilepsy predictions.

# Zusammenfassung

Neuronen stellen die kleinsten Bausteine der Informationsverarbeitung im Gehirn dar. Sie stehen in gegenseitiger Verbindung und interagieren über elektrische Signale, sogenannte Aktionspotentiale (APs). Dabei müssen die Informationen über mehrere Netzwerkstufen integriert werden, um aus den einzelnen Neuronen funktionale, neuronale Module zu bilden. Elektrische Aktivität in lokalen neuronalen Netzwerken führt zu lokalen Feldpotentialen (LFPs), welche in extrazellulären Messungen gemessen werden können. LFPs propagieren über die neuronalen Verbindungen der Netzwerke und können dabei Oszillationen erzeugen. Diese Oszillationen erhöhen die neuronale Synchronisation an bestimmten Zeitpunkten und spielen dadurch eine entscheidende Rolle bei der Integration der Signale einzelner Zellen zu Netzwerkaktivitäten. Defizite in den neuronalen Oszillationen korrelieren häufig mit Gehirnerkrankungen, wie beispielsweise Epilepsie.

Hirnschnitte stellen geeignete Modelle dar, um neuronale Aktivität auf unterschiedlichen Stufen zu untersuchen, da sie die neuronalen Schaltungen sowie die lokale Funktionalität der Hirnregionen weitgehend erhalten. Ebenso können Hirnschnitte über mehrere Wochen kultiviert werden und erlauben dadurch, neuronale Aktivität über einen längeren Zeitraum zu beobachten. In CMOS-Technologie entwickelte, neuartige Mikroelektrodenarrays (CMOS-MEAs) verfügen über eine hohe räumliche Auflösung sowie grosser Messoberflächen der Sensorarrays. Dadurch können selbst in Hirnschnitten mit hohen Zelldichten die APs einzelner ausgewählten Neuronen identifiziert und isoliert werden. Des Weiteren können mit CMOS-MEAs extrazelluläre Signale aus den unterschiedlichen Netzwerkstufen gemessen werden, von einzelnen APs bis hin zu sich ausbreitenden LFPs über verschiedene Bereiche.

Im ersten Teil dieser Arbeit werden die wissenschaftlichen Anwendungen der bestehenden CMOS-MEA-Technologie besprochen. Der zweite Teil beschreibt einen markierungsfreien Ansatz zur Messung und Nachverfolgung der neuronalen Aktivität von einzelnen, ausgewählten Hirnzellen in organotypischen Hippokampus-Hirnschnitten über mehrere Wochen. Im dritten Teil wird schliesslich eine Methode zur Untersuchung der räumlich-zeitlichen Dynamik epileptischer Anfälle aufgezeigt. Initiale AP- sowie LFP-Aktivität, welche vor dem Anfall auftritt und als epileptische Oszillation über verschiedene Hirnschnittregionen propagiert, kann mit der beschriebenen Methode gemessen werden. Abbildungen der elektrischen Aktivität wurden in

hoher raumzeitlicher Auflösung generiert und verwendet, um die neuronalen «Abdrücke» einzelner Hirnzellen über mehrere Wochen aufzuzeichnen sowie die AP-LFP-Aktivität während epileptischen Anfällen zu beobachten.

Die Resultate der vorliegenden Arbeit zeigen, dass sich (1) die neuronale Aktivität einzelner Zellen in organotypischen Hirnschnitten relativ stabil verhält. Daher sind Hirnschnittpräparationen gut geeignet, die Auswirkungen pharmakologischer oder genetischer Modifikationen auf einzelne Neuronen zu untersuchen. (2) Epileptische Anfälle beginnen höchstwahrscheinlich im Ammonshorn des Hippokampus (CA3), und eine verstärkte elektrische Aktivität findet bereits einige hundert Millisekunden vor dem Beginn des epileptischen Anfalls statt. Ausserdem waren die von der epileptischen Aktivität betroffenen Regionen weitgehend konstant. Diese Beobachtungen zeigen das Potential der neuartigen Messmethode auf, die Dynamik epileptischer Anfälle dank der hohen raumzeitlichen Auflösung zu untersuchen sowie die zukünftige Forschung zur Initiierung und Vorhersage epileptischer Anfälle massgeblich zu unterstützen.