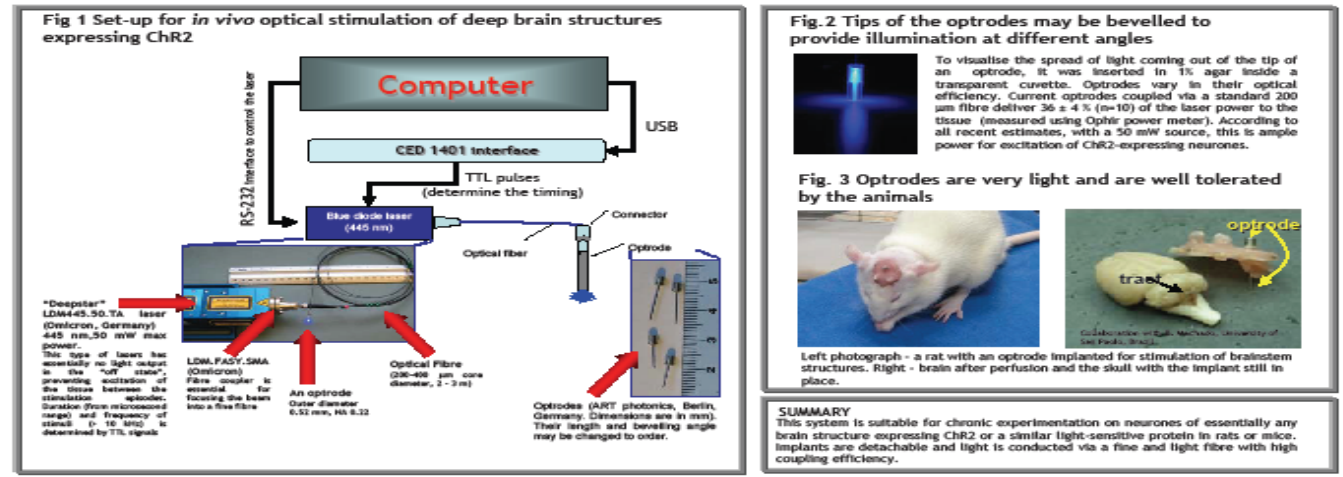


*A fibre-optic laser system for chronic opto-genetic experimentation on deep brain structures ,*

S. Kasparov, [G.L.Danielyan](#), Cerminara N.L., A.G.Teschemacher

Department of Physiology and Pharmacology, University of Bristol, Bristol, BS8 1TD, UK Applied Fibre-optic Laboratory, [Institute of General Physics of the Russian Academy of Sciences](#), Russia, Moscow, Vavilova Str. 38, 119 991.



The ability to control neuronal circuits by light using light-activated ion channels such as channelrhodopsin-2<sup>1</sup> in chronic unrestrained animals is a highly attractive method of interrogation of neuronal circuits. ChR2 can be expressed in various brain structures and targeted to specific cellular types using either viral vectors or germ-line transgenesis. However, convenient hardware solutions for delivery of the frequency and intensity-modulated light pulses to the selected brain areas in a chronic experiment have not been developed. One problem which needs to be overcome are the very significant losses of power which occur when a beam of a diode-based laser has to be conducted via fine fibres suitable for implantation into a rodent brain. Here we present new implantable optrodes which can be coupled to a pulse-modulated blue laser (445 nm, 50 mW, "Deepstar", Omicron, Germany) via a fine (200 μm core) and flexible optical cable. The Optrodes are manufactured of multimode quartz/quartz glass fibres with metal coating (aluminium or gold). Optrodes with a 400 μm core, outer diameter of 0.52 mm and numerical aperture of 0.22 were manufactured to provide different lengths available for implantation (typically between 6 and 14 mm). Their distal ends were polished at different angles. The most effective configuration in terms of power output was the one bevelled on two sides at a 35° angle. These Optrodes should be able to illuminate areas of at least 2x0.5 mm<sup>2</sup>. The Optrodes are secured to the optical cable with a miniature optical connector which allows to attach the cable without causing stress to the animal (art photonics GmbH, Germany). The optical fibre is connected to a 50 mW 445 nm laser which allows analog and TTL control of light intensity and has a very high modulation ratio (1: 100000). An adjustable optical connector SMA-905-DS coupled with a lens is used to allow precise focusing of the laser beam at fibre core of 100-200 μm. Using this hardware we were able to achieve light output from the tips of the optrodes at 36 ± 4 % (n=10) of the laser power which should be ample for a wide range of experiments involving stimulation of brain circuits expressing ChR2.

Citation: Boyden, E. S., Zhang, F., Bamberg, E., Nagel, G., Deisseroth, K. Nature Neuroscience 8, 1263-1268 (2005).

ПЕРЕВОД тезисов доклада

Возможность контроля нейрональных цепей светом с помощью света-активированных ионных каналов, таких как channelrhodopsin-2<sup>1</sup> при хроническом наблюдении за подведением животных является весьма привлекательным методом выявления нейрональных цепей. Используя вирусные векторы или зародышевой линии трансгенеза, ChR2 может быть отражено и содержаться в различных структурах мозга и предназначенных для конкретных клеточных типов. Тем не менее, удобные аппаратные решения для доставки частоты и интенсивность-модулированных световых импульсов в выбранных областях мозга в хроническом эксперименте не были разработаны. Одна проблема, которую необходимо преодолеть, являются очень значительные потери энергии, которые происходят, когда излучение лазера-диода должно передаваться с помощью тонких волокон, пригодных для имплантации в мозг грызуна. Здесь мы представляем новые имплантируемые ОПТРОД, который может быть соединен с импульсно-модулированным синим лазером (445 нм, 50 мВт, "тип DEEP STAR", Omicron, Германия) через кабель с волокном с сердцевиной 200 микрон и имеющей сверх гибкой части. ОПТРОДЫ изготавливаются из многомодовых волокон со структурой кварц/кварц с покрытием металла (алюминия или золота). ОПТРОДЫ использовались с диаметром сердцевины 200 и 400мкм, наружный диаметр –до 0.52 мм и с числовой

апертурой 0.22 были произведены для обеспечения различной длины доступен для имплантации (обычно между 6 и 14 мм). Их дистальные концы были отполированы под разными углами. Наиболее эффективной конфигурации в плане мощности на выходе был один скошенный с двух сторон на угол 35 градусов. Эти ОПТРОДЫ обеспечивали засветку не менее 2x0.5 мм<sup>2</sup>. В конструкции оптрода предусмотрено закрепление на оптический кабель с миниатюрным оптическим разъемом, который позволяет присоединить кабель без стресса для животного (art photonics GmbH, Германия). Таким образом Оптическое волокно подключалось к лазеру 50 МВт, 445 нм, который позволяет аналоговым и TTL контролем интенсивности света и имеет очень высокий коэффициент модуляции (1: 100000). Регулируемый оптический разъем SMA-905-Ф в сочетании с объективом позволяет осуществлять точную фокусировку лазерного луча в волокно от 100 -200 мкм. С помощью этого оборудования мы смогли добиться трансмиссии для ОПТРОДОВ  $36 \pm 4 \%$  ( $n=10$ ) от лазерной мощности. Такое излучение достаточно для широкого спектра экспериментов с участием стимуляции мозговых цепей, выражающих Chr2.

# ICONO/LAT 2013

Int'l Conference on Coherent and Nonlinear Optics (ICONO 2013)  
Int'l Conference on Lasers, Applications, and Technologies (LAT 2013)

## ***A fibre-optic laser systems for optogenetic experimentation on deep brain structures and for bio cells markers fluorescent analysis during long term experimental lifetime cell inspection***

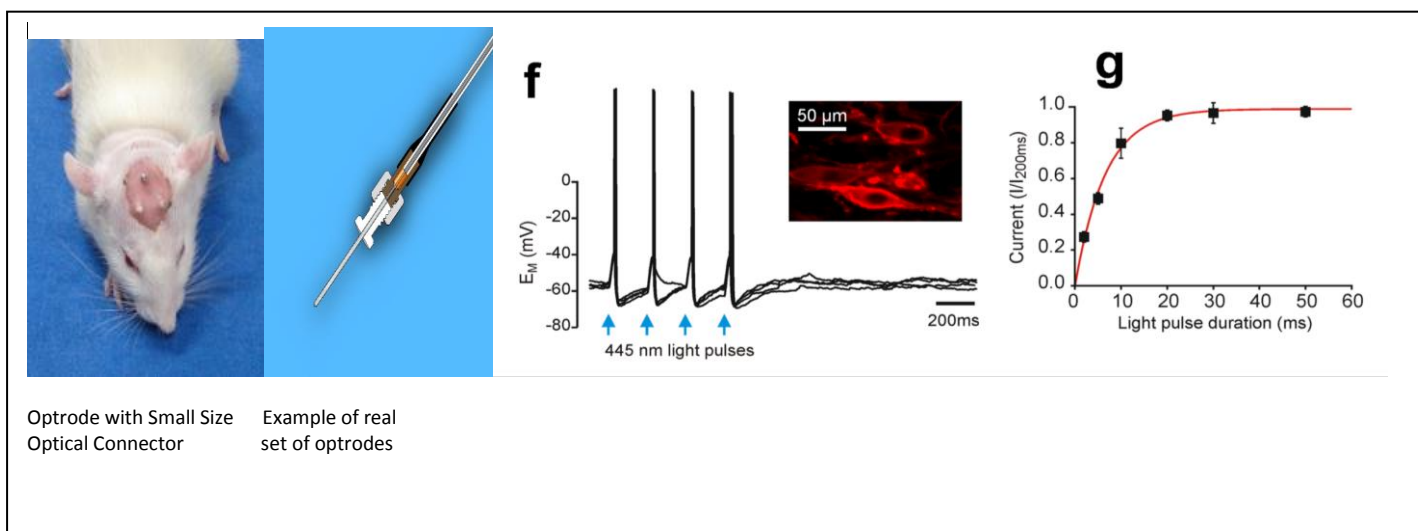
Artyushenko V., Danielyan G., Avakyan A., Kashin V., Sakharova T.- A.M. Prokhorov General Physics Institute RAN, Moscow, Russia, [gldan@nsc.gpi.ru](mailto:gldan@nsc.gpi.ru), [sa@artphotonics.com](mailto:sa@artphotonics.com), Tel./Fax +7-499-135-23-83

S. Kasparov, A. Teschemacher A. Gourine - University of Bristol, Bristol, University College London, UK,

A. Bocharnikov, - art photonics GmbH, Berlin, Germany [ab@artphotonics.de](mailto:ab@artphotonics.de), [www.artphotonics.de](http://www.artphotonics.de)

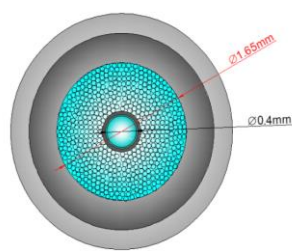
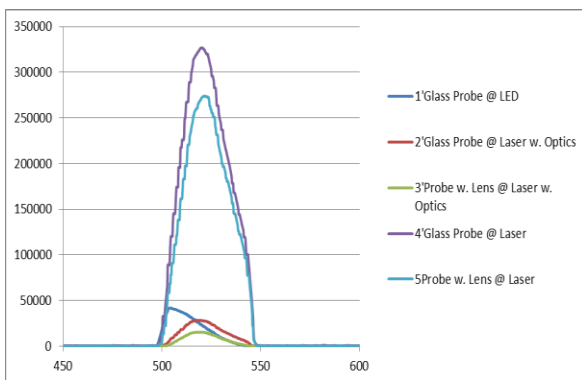
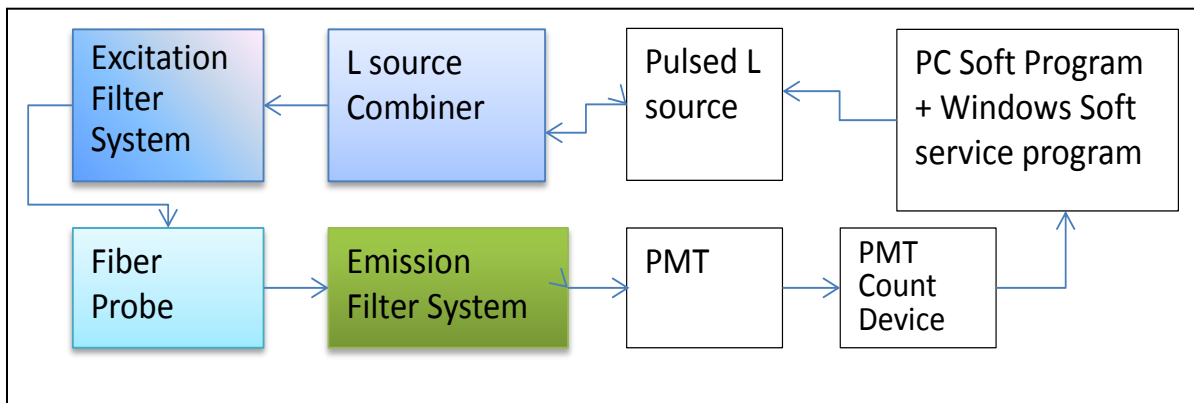
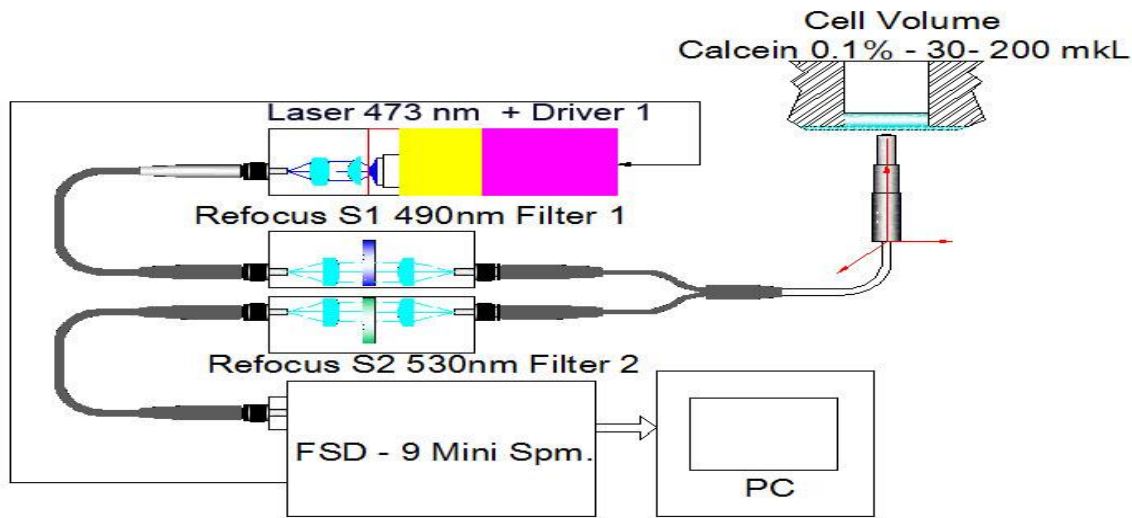
**Optogenetic** stimulation of astrocytes expressing channelrhodopsin-2 activated chemoreceptor neurons via an ATP-dependent mechanism and triggered robust respiratory responses in vivo. This demonstrates a potentially crucial role for brain glial cells in mediating fundamental physiological reflex [1].

New implantable optrodes which can be coupled to a pulse-modulated laser (405-475 nm, 50 mW,) via a fine (200-600  $\mu\text{m}$  core) and flexible optical cable. The optrodes are manufactured of multimode quartz/quartz glass fibres with metal coating (aluminium or gold). Optrodes with a 400  $\mu\text{m}$  core, outer diameter of 0.52 mm and numerical aperture of 0.22 were manufactured to provide different lengths available for implantation (typically between 6 and 14 mm). Their distal ends were polished at different angles. The most effective configuration in terms of power output was the one bevelled on two sides at a 35° angle. These optrodes should be able to illuminate areas of at least 2x0.5 mm<sup>2</sup>. The optrodes are secured to the optical cable with a miniature optical connector which allows to attach the cable without causing stress to the animal (A.R.T. Photonics GmbH, Germany)[2]. The laser which allows analog and TTL control of light intensity and has a very high modulation ratio (1: 100000) and controlled by spectrometer FSD-9[3].



An optogenetic actuator similar to ChR2 called Chief-TdTomato was expressed in the brainstem DVM neurones which provide inhibitory inflow to the heart via vagus nerve. Recordings were made from acute slices from transduced neurones from in pre-injected rats (7 days later). Light was delivered via a flat tipped optrode positioned next to the slice.

Fluorescent signal can be provided by a variety of cell dyes or fluorescent proteins. In our research, the analog of EGFP gave successful results. Monitoring system includes illuminating light sources, custom Y-shaped fiber bundle



Fiber Probe with Glass Fibers Type 2 + MicroLens R1

**Resume** DESIGNED WIDE EXPERIMENTAL PROVED CONSTRUCTION OF SPECTRAL PROBE FOR DIFFERENT APPLICATION . RESULTS WILL BE PUBLISHED IN 2013 .

**CITATION**

- Alexander V. Gourine, A. Teschemacher, K.Spyer, K. Deisseroth, S. Kasparov , SCIENCE VOL 329 30 JULY 2010, pp 571-575
- S. Kasparov, G.L.Danielyan, Cerminara N.L., A.G.Teschemacher , A fibre-optic laser system for chronic opto-genetic experimentation on deep brain structures, Abstract of Int/Conf SNF 2008 New York
- G.L.Danielyan , S.V.Savosin , J.V.Bazhanov , S.N.Markov, Development of Multi Channel Optical Fiber Bundles and wide-band Sensor –Mini Spectrometer with a Fiber Optic Light Input for Remote Sensing in Biomedicine and Physics Research./ *Opticheski Zurnal* #1 , 2010 , GOI S-Petersburg