解 説

ダイナミッククランプ：導入とネットワーク研究への展開

坪 泰 宏, 深 井 朋 樹

理化学研究所脳科学総合研究センター*

Dynamic Clamp: an integration of theoretical approaches into *in vitro* experiments

Yasuhiro Tsubo and Tomoki Fukai

Laboratory for Neural Circuit Theory, Brain Research Center, RIKEN*

概要

神経細胞の電気活動を調べるためには、生体の神経細胞に対する受動的な観察に併せて、神経細胞への電気的入力に対する応答をみる能動的な観察が必要である。これまで能動的な観察の手法として、カレントクランプ法やボルテージクランプ法と呼ばれる手法が用いられてきたが、近年、第3の手法である「ダイナミッククランプ法」が提案され、市民権を得てきている。本稿では、前半でダイナミッククランプ法とは何か、この手法によって新たに何ができるようになったかを中心に説明し、後半で筆者らの研究に関係した具体的な2つの話題を中心に解説する。

1. は じ め に

神経細胞の最も重要だと考えられている機能は、電気的な入力を受け、演算を行い、出力を出す電気素子としての機能である。電極を用いてこの電気活動を調べる電気生理実験においては、電流（カレント）を操作（クランプ）して電位を記録するカレントクランプ（current clamp）法、逆に電位（ボルテージ）を操作して電流を記録するボルテージクランプ（voltage clamp）法と呼ばれる2つの手法が用いられてきた（図1）^{1–3)}。これら従来の手法では、操作する電流、及び電位はあらかじめ決められたもの（例えば、矩形パルス波、正弦波、ノイズ波など）が用いられ、神経細胞の種々の自励的な性質が明らかにされてきたが^{4–6)}、次のような限界があった。例えば、神経細胞は前の神経細胞からの入力を化学シナプス、もしくは電気シナプスを介して受け取る。化学シナプスを介した入力は、コンダクタンスの変化として記述されることが知られているが、この入力を電気生理実験で模倣しようとする場合、電流でも電位でもなく、コンダクタンスを「操作」する必要がある。ところが、従来の方法ではこのコンダクタンスを操作することはできなかった。

このコンダクタンスを操作するというを可能に

したのがダイナミッククランプ（dynamic clamp）法（もしくはコンダクタンスクランプ（conductance clamp）法）である。ダイナミッククランプでは、カレントクランプにフィードバック回路を組み合わせることにより、出力電位を参照しながらその値を用いてリアルタイムで入力電流を決定する（図1）。後述のように、この拡張を用いればコンダクタンスを操作することが可能になる。

ダイナミッククランプの概念は1993年にBrandeis大学のE. Marderのグループ^{7,8)}、及びCambridge大学のH.P.C. Robinsonのグループ⁹⁾（彼らはコンダクタンスクランプと命名）によって独立に提唱された。以来、このダイナミッククランプを用いて多くの研究が行われ、特に理論と実験を融合した研究が報告されてきた。次節では、まずこのダイナミッククランプの概念にもう少し詳しく説明する。

2. ダイナミッククランプの基礎

カレントクランプでは、神経細胞に対して電流 I_{input} を入力する。このとき、出力膜電位 V は次のように記述される。

$$C \frac{dV}{dt} = I_{\text{intrinsic}}(V, t) + I_{\text{input}}(t). \quad (1)$$

ここで C は膜容量、 $I_{\text{intrinsic}}$ は神経細胞がもつ種々のイオンチャネルによる電流である（図2）。ところ

* 〒 351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1
yasuhirosubo@riken.jp, tfukai@riken.jp

図1 3つの電気生理学的手法

が、カレントクランプを用いてあるイオンチャネルのコンダクタンス g_{input} を入力したい場合には、入力電流 I_{input} はその時刻における膜電位 V に基づきリアルタイムで決定される必要がある。

$$I_{\text{input}}(t) = g_{\text{input}}(V, t)(V - E_{\text{rev}}). \quad (2)$$

ここで、 E_{rev} は想定しているイオンチャネルの反転電位である。逆に、もし入力電流を決定するときにその時刻における（現実的には微小時間 Δt 前の）膜電位を用いることができれば、任意のコンダクタンス変化を入力することができる。この膜電位の参照をフィードバックを用いて実現するのがダイナミッククランプである（図1）。化学シナプスにおいて代表的な受容体である AMPA 型グルタミン酸受容体（速い興奮性）や GABA_A 型受容体（速い抑制性）によるシナプス電流のコンダクタンスは、膜電位 V には依存しない（すなわち $g_{\text{input}}(t)$ ）。にもかかわらず、そのシナプス電流 $I_{\text{input}} = g_{\text{input}}(t)(V - E_{\text{rev}})$ は膜電位 V に依存することがわかる。このため、たとえコンダクタンス変化が電位依存しないとしても、コンダクタンスを入力するためには必ず膜電位 V をフィードバックしなければならない。NMDA 型グルタミン酸受容体（遅い興奮性）のように、コンダクタンスが膜電位に直接依存する場合（すなわち $g_{\text{input}}(V, t)$ ）は当然膜電位 V のフィードバックが必要になる。

このように、コンダクタンスを入力する場合にはフィードバックされた出力膜電位 V を用いて電流入力 I_{input} をリアルタイムで計算し入力する実験システムが不可欠である。このシステムを実装するためには、専用に構築されたハードウェアか、リアルタイムオペレーションシステムを搭載したパーソナルコンピュータが必要となる。次節では、このダイナミッククランプの実装について述べる。

図2 並列等価回路モデル

3. ダイナミッククランプの実装

ダイナミッククランプを実際に行うにはどのような準備が必要であるか。ダイナミッククランプではリアルタイムで入出力制御や演算を行う必要がある。現在、このリアルタイム制御を行うシステムはさまざまなものが使用されているが、経済的成本、精度、拡張性、要求されるプログラミング技術のレベルなどの点で、どれも一長一短である。それではいくつかの例について、その長所、短所を紹介しよう。

実装1：Windowsを用いたシステム

Windowsを用いたダイナミッククランプのシステムは、例えば R.D. Pinto らが開発したシステム Dyn-Clamp が無料で公開されている^{8,10)}。標準的なカレントクランプができるセットアップ（例えば彼らは Molecular Devices 社 Digidata 1200A という AD/DA コンバータを使用している）に搭載することができるという点が利点だが、Windows はオペレーションシステム（Operation System; OS）としてリアルタイム制御に向かないため、高速で安定したリアルタイム性を得るのが難しいようである^{11,12)}。

実装2：アナログ機械を用いたシステム

非常にシンプルでかつ高精度なリアルタイム性が保証されているシステムとしては、リアルタイム処理をハードウェアで行うシステム、例えば HEKA 社の ITC-18¹³⁾ や、Cambridge Conductance 社の SM-1¹⁴⁾ がある。SM-1 はダイナミッククランプの提唱者の 1 人である Robinson によって開発された機械で、様々なダイナミッククランプの応用のうち、シナプス入力に特化して設計され、ただ結線しつまみを調節してスイッチを入れるだけで、簡単に AMPA 受容体、GABA_A 受容体、NMDA 受容体のシナプス電流を模することができる。問題点は拡張性が低い点と、価格が 50 万円前後と高価である点である。なお、最近 SM-1 は終売され、DSP タイプの後継機 SM-2¹⁴⁾ が開発され

ている。

実装 3: LabVIEW Real-Time を用いたシステム

拡張性を求める場合、National Instruments 社が提供する LabVIEW を選択することができる。このシステムは同社のハードウェアと併せたグラフィカルなプログラミングが可能など、拡張性も高く使いやすく設計されている¹⁵⁾。また LabVIEW Real-Time を用いれば、リアルタイム制御を高精度で行うことができる。問題点は LabVIEW 専門の知識が必要になること、また何よりも大きな問題は高価であることである。LabVIEW Real-Time を導入する場合、一式でおそらく 100 万円は下らないだろう。しかしながらこの予算の問題さえクリアできれば、さらに専属のエンジニアに依頼してカスタムプログラムを作成してもらうことが可能なようである。

実装 4: Real-Time Linux を用いたシステム

低コストでかつ高性能なシステムを構築したい場合には Real-Time Linux によるシステムを選択する方法がある。Linux は Windows, MacOS に並ぶ OS の 1 つで基本的に無料である。リアルタイム Linux はこの Linux にリアルタイム制御の機能を持たせた OS であり、拡張性が高い点、Windows で問題になるリアルタイム性の精度を改善している点、さらに OS まで無料である点を考えると最も優れたシステムであると思われるが、唯一かつ大きな問題点は、システムを導入、構築する際に他のシステムと比べてデバイス、Linux, C プログラミングに関する知識を必要とする点である。しかしながら最近では、基本的な Linux の知識を用いるだけでリアルタイム OS を導入できるディストリビューション（カーネル (Kernel) と呼ばれる基本 OS と周辺ソフトウェアの集合）が公開されている。筆者らの研究室では、Ubuntu¹⁶⁾ と呼ばれるディストリビューションパッケージを用いて 20 kHz 程度の精度でリアルタイム制御が可能であることを確認している。この他、R.J. Butera ら (MRCI) や、A. Dorval ら (RTLDC) などによって構築されたダイナミッククランプ用のプログラムが存在したが、現在では Real-Time eXperiment Interface (RTXI) と呼ばれるプロジェクトに統合されている¹⁷⁾。これらのプログラムを導入するには、まず最初にリアルタイム Linux である RTAI¹⁸⁾ や RTLinuxFree¹⁹⁾ と AD/DA ボードのドライバを導入する必要がある、少し進んだ Linux に関する知識が必要になる。

以上のように、様々な方法でダイナミッククランプを実装することが可能である。次節ではこれらの方法によってダイナミッククランプを実装することにより

どのような実験が可能になったかについて述べる。

4. ダイナミッククランプがもたらしたもの

1993 年の Marder もしくは Robinson の論文⁷⁻⁹⁾を引用している論文は実に 200 件以上にのぼる。初期はリアルタイム制御に関する技術的な論文も多かったが、以降数々の応用的研究が行われてきた。前述の通り、この手法を用いればコンダクタンスをクランプできるのだが、ではそれを利用してどのようなことができるのだろうか。ここでは 2004 年の Prinz らの解説文¹¹⁾を参考にして、特に理論研究と結びつきが強い応用的研究を 2 つに分類してみた。

4.1 神経細胞の自励的性質を調べる

— 仮想イオンチャネルの追加・消去

単一の神経細胞の電気的特性に関してあるイオンチャネルの機能を調べるために、従来はそのイオンチャネルに対して選択的な阻害薬を用いて薬理的にそのイオンチャネルを阻害して電気生理実験を行ったり、また詳細な神経細胞の並列等価回路モデルを構築し計算機シミュレーションを用いたり、といった手法が用いられてきた。しかしながら薬理的な手法では選択的とはいえ薬品の副作用が考えられるし、また並列等価回路モデルでは 1 つのイオンチャネルの機能を調べるために多くの他のイオンチャネルをモデル化する必要があり、最悪の場合それらの設定次第で結論が変わってしまう危険性がある。そこで新しい方法として、ダイナミッククランプを用いて仮想的なイオンチャネルを神経細胞に追加することが有効となる。

例えば、膜電位を脱分極させると高頻度に発火する (Fast Spiking; FS) 細胞は Kv3 と呼ばれる特徴的な電位依存性カリウムチャネルをもっていることが知られている。Lien と Jonas は、このイオンチャネル Kv3 が高頻度発火にどのように影響しているかを調べるために、以下の手順でダイナミッククランプを用いて海馬 FS 細胞に Kv3 を仮想的に追加、消去した²⁰⁾。まず最初にボルテジクランプを用いて Kv3 チャネルのコンダクタンス変化を Hodgkin-Huxley (HH) 型方程式でモデル化した。次に海馬 FS 細胞の Kv3 チャネルを阻害薬を用いて薬理的に阻害したのち、HH 型方程式でモデル化した Kv3 のコンダクタンス変化をダイナミッククランプを用いて仮想的に追加した。その結果、阻害薬によってスパイクの幅が広くなりスパイクの間隔が長くなっていた FS 細胞が、ダイナミッククランプによる Kv3 の仮想的な追加により最初の状態に復活した。また、自然な状態の FS 細胞からダイナミッククランプにより Kv3 のコンダクタンス変

化を仮想的に差し引くと、薬理的な阻害薬と同じような効果を示した。さらに通常高頻度発火できない海馬錐体細胞にダイナミッククランプで $Kv3$ を仮想的に導入したところ、FS 細胞のような高頻度発火が可能になった。この実験が示すように、単一の神経細胞におけるあるイオンチャネルの機能を調べるために、ダイナミッククランプは非常に効果的であることがわかる。他のチャネルに関してもこの手法は応用できるだろう。

4.2 神経回路の相互作用を調べる

神経回路の相互作用により生じる挙動を調べるために、ダイナミッククランプを用いることにより、神経細胞を仮想的に結合することが可能になる。ここで重要になるのは、注目する神経細胞に入力されるシナプス電流の生じるタイミングを他の神経細胞の発火タイミングにあわせることである。例えば、Netoff らは嗅内皮質の興奮性細胞と海馬 CA1 抑制性細胞をそれぞれ 2 個結合したときの挙動を位相応答解析と呼ばれる数理的手法を用いて予測し、その結果をダイナミッククランプを用いて検証した²¹⁾。後述の通り、彼らは位相応答解析により 2 細胞の挙動を予測することに成功した。さらなる拡張として、より多くの神経細胞で構成される神経回路の挙動をダイナミッククランプで仮想的に調べたり、計算機上の神経回路モデルと神経細胞を結合することにより、仮想的な局所回路を構築し、理論の検証することも可能である。

別の応用として、生体の状況下 (in vivo) でみられるバックグラウンド入力の効果を模倣することも可能である。通常のスライス実験が行われる状況下 (in vitro) では、シグナル入力がない場合には大脳皮質の神経細胞はほとんど入力を受け取らず、従って膜電位も静止膜電位からほとんど変化しない。しかし生体の状況下 (in vivo) では神経細胞は他の神経細胞からバックグラウンド入力を受け、シグナル入力がない場合でも大きく揺らいでいる。この大きな揺らぎはシナプス入力によるものなので、ダイナミッククランプを用いてこのような状況を再現することが必要である。例えば Chance らは、この状況をダイナミッククランプを用いて再現することにより神経細胞の特定のシグナル入力に対する応答がバックグラウンド入力によってどのような影響を受けるかを調べた²²⁾。神経細胞は通常シグナル入力が強くなると応答発火率がほぼ比例して増加する。彼らはこの比例係数 (ゲイン) がバックグラウンド入力の増加とともに減少することを示した。

このように、カレントクランプにフィードバック回路を用いるというダイナミッククランプの原理は非常

に単純であるが、従来不可能であった数々の実験を可能にしている。今後、アイディア次第でさらに発展させることが期待される。以降の 2 節では、ダイナミッククランプと理論研究を融合した研究の具体例をより詳しく紹介していく。

5. 具体例 1：理論の検証—位相応答理論

この節では、神経回路における神経細胞の発火タイミングに関して筆者らが関係した研究を紹介する。これまでの研究により神経細胞集団の同期的発火状態が脳の機能において重要な役割を果たしている可能性が示唆されてきた^{23, 24)}。この神経回路における神経細胞集団の同期状態を理解するためには、多くの神経細胞の内部電位変化を同時にそれぞれ高い時間分解能で記録することが理想であるが、残念ながら現在ではこれは非常に困難であり、理論的研究や計算機シミュレーションを用いるなど別のアプローチが必要となる。例えば、位相応答解析という低次元かつ相互作用における本質的な要素に着目した解析が行われてきた^{25, 26)}。位相応答解析とは、端的に述べるとシナプス入力タイミングに依存して、注目している神経細胞の発火タイミングがどのような影響を受けるか、すなわち発火タイミングが早まるか遅れるかを調べ記述し、この影響を表した関数 (位相応答曲線) に基づき神経細胞間の同期状態を調べる方法である。

Netoff らは、嗅内皮質の興奮性細胞と海馬 CA1 の抑制性細胞の位相応答曲線を単一の神経細胞から計測し、その位相応答曲線をもとに 2 細胞間の発火がどのようなタイミングで生じるかを理論的に予測した²¹⁾。実際に計測された位相応答曲線によると、結合された 2 つの嗅内皮質興奮性神経細胞どうしが同じ振動数で周期発火している場合、お互いの発火のタイミングは揃い、結合された 2 つの海馬 CA1 抑制性神経細胞どうしはお互い交互に反位相で発火することが予測された。この理論による予測をダイナミッククランプにより実験的に検証したところ、上記の理論予測通りの結果が得られた。彼らの結果は、位相応答解析は神経細胞の同期特性を有効に表現することを示唆している。

筆者らは、この位相応答理論を大脳皮質の多数の神経細胞からなる局所回路に適用するために、大脳皮質運動野の興奮性神経細胞から位相応答曲線を計測した²⁷⁾。図 3 はスライス実験で記録された神経細胞集団の位相応答曲線である。このグラフが示すように、神経細胞が 20 Hz 以上の高頻度で発火している場合に、計測された位相応答曲線は神経細胞によって大きく異なり、さらに脳表面から深い層 (V 層) の興奮性神経細胞の

図3 位相応答曲線の層依存性と多様性²⁸⁾.

Reprinted figure with permission from Tsubo et al., Phys. Rev. Lett., 99, 228101 (2007)

© 2007 by the American Physical Society

図4 集団振動数 ω と細胞集団の同期度 R^1 ²⁸⁾.

Reprinted figure with permission from Tsubo et al., Phys. Rev. Lett., 99, 228101 (2007)

© 2007 by the American Physical Society

位相応答曲線 (灰実線) と、浅い層 (II/III 層) の興奮性神経細胞の位相応答曲線 (黒点線) とでは、その曲線の分布が異なるということがわかった。記録された位相応答曲線が神経細胞によって多様であるということは、理論解析を用いて多数の神経細胞どうしの挙動を予測することを困難にする。なぜならば、従来の理論では多数の神経細胞に対してその同期挙動を予測する際に神経細胞の位相応答曲線は細胞によらずほぼ同じであるという仮定が用いられていたからである。そこで筆者らは多様な位相応答曲線をもつ細胞集団の同期挙動を予測できるように理論的な枠組を拡張し、さらにさきほどの電気生理データに適用した²⁸⁾。その結果図4に示すように、II/III 層の集団 (黒実線) は V 層の集団 (灰実線) に比べて同期の程度を表す R^1 が大きいこと、また V 層の集団は発火率が上昇すると突然バラバラになること (図中灰点線) が理論的に予測された。これは、「出力層」である V 層の興奮性神経細胞集団は「入力層」である II/III 層の興奮性神経細胞集団よりもお互いに同期発火しにくいことを意味している。

Netoff らが2つの神経細胞の挙動に関する理論的予測をダイナミッククランプを用いて実験的に検証した

のと同様に、筆者らは現在、多数の神経細胞集団の挙動に関する理論的予測を実験的に検証している。これを可能にしているのがまさにダイナミッククランプなのである。

6. 応用例2: バランス入力の特徴

この節では、ダイナミッククランプ法を用いて in vivo の状況を模倣した実験の例として、筆者らの研究について解説する²⁹⁾。生体における大脳皮質神経細胞は非常に不規則に発火することが報告されている^{30,31)}。発火間隔が非常に不規則であることは、時々刻々と変化する神経細胞の発火率を正確に推定、あるいは復号化することを困難にしている。ところがもし、発火間隔の不規則性が発火率の変化と分離されていれば、発火率変動の復号化は改善される。情報幾何学の表現を借りれば、神経細胞は発火率変動を正確に復号化するために発火間隔の不規則性と発火率の変化を「直交」するような情報表現を用いている可能性がある。この情報表現を用いる場合、三浦ら³²⁾によると以下の2つの条件 (1) 発火間隔の分布が不規則性 κ と発火率 R で特徴づけられるガンマ分布で記述されていること、(2) その不規則性 κ が時間変動しないこと、が満たされればよい。そこでこのような情報表現が可能であるために神経細胞がどのような入力を受けていけばよいかを調べるために、大脳皮質スライスからの電気生理記録を用いて実験した。

まず、神経細胞への入力電流 I_{input} を興奮性と抑制性のランダムなコンダクタンス変化 $g_e(t)$ と $g_i(t)$ の合成として記述した。

$$\begin{aligned} I_{\text{input}}(V, t) &= g_e(t)(V - E_e) + g_i(t)(V - E_i), \\ \tau_e \frac{dg_e(t)}{dt} &= -(g_e(t) - g_{e0}) + \frac{g_{e0}}{2} \xi_e(t), \\ \tau_i \frac{dg_i(t)}{dt} &= -(g_i(t) - g_{i0}) + \frac{g_{i0}}{4} \xi_i(t). \end{aligned} \quad (3)$$

ここで、変数の添字 e, i はそれぞれ興奮性、抑制性を表す。 $E_i = -75$ [mV] と $E_e = 0$ [mV] は反転電位、 $\tau_i = 10.5$ [ms] と $\tau_e = 2.7$ [ms] はコンダクタンス変化の時定数、 g_{e0} と g_{i0} は平均コンダクタンス入力である。実験ではコントロールパラメータとして、興奮と抑制のバランスを表す実効的なシナプス反転電位 $V_r = (g_{e0}E_e + g_{i0}E_i)/(g_{e0} + g_{i0})$ と総シナプス入力に関係する興奮性シナプス入力量 g_{e0} の2つをとった。 V_r が大きくなるということは抑制性入力に対して興奮性入力の割合が大きくなり、結果として入力電流の平均が上昇することを意味し、 g_{e0} が大きくなるということは、総入力量が多くなりそれだけ入力電流の分

図5 ランダム入力に対する神経細胞の不規則発火²⁹⁾.
© 2007 by the Society for Neuroscience

散が大きくなることを意味する。

このようなランダム入力に対する神経細胞の応答発火時系列を図5に示した。発火間隔 (inter-spike interval; ISI) はランダムであり、その間隔分布はガンマ分布でよく記述できることがわかる。そして三浦らの方法³²⁾を用いて、この間隔分布からガンマ分布のパラメータである不規則性 κ と発火率 R を推定した。入力強度 g_{e0} を一定に保ったまま入力バランス V_r を増加させると、発火率 R と不規則性 κ の両方とも変化する。一方、入力バランス V_r を一定に保ったまま入力強度 g_{e0} を増加させると、発火率 R は3倍以上増加するにも関わらず、不規則性 κ はほとんど変動しないことがわかる (図6)。膜特性には神経細胞ごとに違いがあるため、自然な発火率を再現する V_r の範囲は細胞ごとに異なる。しかしながら、 κ は g_{e0} ではなく V_r に大きく依存するという傾向は、記録した全てのニューロンで共通に見られた。興奮性入力と抑制性入力の強度の比が一定の場合、つまり入力バランス V_r が一定に保たれている場合のみ、スパイクの規則性 κ が一定に保たれることがわかった。Shu らによると、生体内 (in vivo) の神経細胞では興奮性入力と抑制性入力のバランスが一定である³³⁾。情報を復号化する観点からは、神経細胞の発火率 R と不規則性 κ を同時に推定することは難しい問題である。そこで筆者らの実験結果と Shu らの知見と併せて考えると、脳は不規則性 κ を一定にすることによって発火率の推定を容易にし、効率良く情報を処理しているのかもしれない。

7. ま と め

本稿では、電気生理学における新しい実験手法であるダイナミッククランプ法について、その原理、実装、応用について簡単に述べてきた。カレントクランプ法の単純な拡張であるダイナミッククランプは多くの新しい実験を可能にしてきたが、従来法における難点をいまのところすべて克服できているわけではない。例えば、コンダクタンスの変化を入力できるようになっ

図6 発火率 R と不規則性 κ の入力依存性²⁹⁾.

© 2007 by the Society for Neuroscience

たがその入力部位の空間的な分布は再現できない。つまり樹状突起の先への入力は再現できず、たとえ樹状突起にパッチクランプを行ったとしても高々数ヶ所に過ぎず、数百、数千のシナプス入力の場所依存性を完全に模することはできない。また、化学物質による変化やイオンの流れを模することができない。特にカルシウムイオンなど、細胞内濃度変化が重要になるイオンについてはこの点が重要になる。最後に、電極による抵抗やキャパシタンスといった計測対象でない系が影響を与える場合がある。この影響は抵抗の低い電極を用いたり、同じ神経細胞の細胞体に2本の電極を差すなどの工夫により軽減できる。これらの難点はあるが、ダイナミッククランプは入力電流を決めるときに電位をフィードバックするという原理的な発想であるため、今後さらなる発展が期待される。

謝辞

日頃から多くの協力の下さる理研脳総研深井チーム各位、特に実験補助をして下さる石井久美氏と計算機関連の貴重な助言を賜った竹川高志博士に感謝する。本稿で紹介した研究の共同研究者である東京大学岡田真人先生、三浦佳二博士、都神経研高田昌彦先生、New York Univ. Alex Reyes 先生、理研脳総研深井チーム寺前順之介博士に感謝する。

参 考 文 献

- 1) Nicholls, J.G., Martin, A.R., Wallace, B.G., Fuchs, P.A. (2001): From Neuron to Brain,

- Fourth Edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.
- 2) 宮川博義, 井上雅司 (2003): ニューロンの生物物理, 東京: 丸善
  - 3) 岡田泰伸編 (2001): 新パッチクランプ実験技術法, 京都: 吉岡書店
  - 4) McCormick, D.A., Connors, B.W., Lighthall, J.W., Prince, D.A. (1985): Comparative electrophysiology of pyramidal and sparsely spiny neurons of the neocortex, *J. Neurophysiol.*, Vol.54, pp.782–806
  - 5) Connors, B.W., Gutnick, M.J. (1990): Intrinsic firing patterns of diverse neocortical neurons, *TINS*, Vol.13, pp.99–104
  - 6) Mainen, Z.F., Sejnowski, T.J. (1995): Reliability of spike timing in neocortical neurons, *Science*, Vol.268, pp.1503–1506
  - 7) Sharp, A.A. et al. (1993): The dynamic clamp: artificial conductances in biological neurons, *TINS*, Vol.16, pp.389–394
  - 8) Sharp, A.A. et al. (1993): Dynamic clamp: computer-generated conductances in real neurons, *J. Neurophysiol.*, Vol.69, pp.992–995
  - 9) Robinson, H.P.C., Kawai, N. (1993): Injection of digitally synthesized synaptic conductance transients to measure the integrative properties of neurons, *J. Neurosci. Methods*, Vol.49, pp.157–165
  - 10) DYNCLAMP: “<http://inls.ucsd.edu/~rpinto/dynclamp.html>”
  - 11) Prinz, A.A., Abbott, L.F., Marder, E. (2004): The dynamic clamp comes of age *TINS*, Vol.27, pp.218–224
  - 12) Wilders, R. (2006): Dynamic clamp: a powerful tool in cardiac electrophysiology, *J. Physiol.*, Vol.576, pp.349–359
  - 13) HEKA 社 ITC-18: “<http://www.heka.com/physio/equipment/interfaces/itc18.html>”
  - 14) Cambridge Conductance 社 SM-2: “<http://www.cambridgeconductance.com/>”
  - 15) 日本 National Instruments 社 LabView: “<http://www.ni.com/labview/ja/>”
  - 16) Ubuntu Japan Team: “<http://www.ubuntulinux.jp/>”
  - 17) RTXI—Real-Time eXperiment Interface: “<http://rtxi.org/>”
  - 18) RTAI—the RealTime Application Interface for Linux from DIAPM: “<https://www.rtai.org/>”
  - 19) RTLinuxFree: “<http://www.rtlinuxfree.com/>”
  - 20) Lien, C.C., Jonas, P. (2003): Kv3 potassium conductance is necessary and kinetically optimized for high-frequency action potential generation in hippocampal interneurons, *J. Neurosci.*, Vol.23, pp.2058–2068
  - 21) Netoff, T.I., Banks, M.I., Dorval, A.D., Acker, C.D., Haas, J.S., Kopell, N., White, J.A. (2005): Synchronization in hybrid neuronal networks of the hippocampal formation, *J. Neurophysiol.*, Vol.93, pp.1197–1208
  - 22) Chance, F.S., Abbott, L.F., Reyes, A.D. (2002): Gain modulation from background synaptic input, *Neuron*, Vol.35, pp.773–782
  - 23) Plenz, D., Kitai, S.T. (1996): Generation of high-frequency oscillations in local circuits of rat somatosensory cortical cultures, *J. Neurophysiol.*, Vol.76, pp.266–283
  - 24) Herrmann, C.S., Munk, M.H., Engel, A.K. (2004): Cognitive functions of gamma-band activity: memory match and utilization, *Trends. Cogn. Sci.*, Vol.8, pp.347–355
  - 25) Hansel, D., Mato, G., Meunier, C. (1995): Synchrony in excitatory neural networks, *Neural. Comput.*, Vol.7, pp.307–337
  - 26) Galan, R.F., Ermentrout, G.B., Urban, N.N. (2005): Efficient estimation of phase-resetting curves in real neurons and its significance for neural-network modeling, *Phys. Rev. Lett.*, Vol.94, pp.158101
  - 27) Tsubo, Y., Masahiko, T., Reyes, A.D., Fukai, T. (2007): Layer and frequency dependences of phase response properties of pyramidal neurons in rat motor cortex, *Eur. J. Neurosci.*, Vol.25, pp.3429–3441
  - 28) Tsubo, Y., Teramae, J., Fukai, T. (2007): Synchronization of excitatory neurons with strongly heterogeneous phase responses, *Phys. Rev. Lett.*, Vol.99, pp.228101 “<http://link.aps.org/abstract/PRL/v99/e228101>”
  - 29) Miura, K., Tsubo, Y., Okada, M., Fukai, T. (2007): Balanced excitatory and inhibitory inputs to cortical neurons decouple firing irregularity from rate modulations, *J. Neurosci.*, Vol.27, pp.13802–13812
  - 30) Softky, W.R., Koch, C. (1993): The highly irregular firing of cortical cells is inconsistent with temporal integration of random EPSPs, *J. Neurosci.*, Vol.13, pp.334–350
  - 31) Shadlen, M.N., Newsome, W.T. (1998): The variable discharge of cortical neurons: implications for connectivity, computation, and information coding, *J. Neurosci.*, Vol.18, pp.3870–3896
  - 32) Miura, K., Okada, M., Amari, S. (2006): Estimating spiking irregularities under changing environments, *Neural Comput.*, Vol.18, pp.2359–2386
  - 33) Shu, Y., Hasenstaub, A., McCormick, D.A. (2003): Turning on and off recurrent balanced cortical activity, *Nature*, Vol.423, pp.288–293