

孙伟铭,刘观秀,董香丽,等. 双光子钙成像技术在非人灵长类动物大脑皮层神经元功能的研究现状 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(7): 949-954.

Sun WM, Liu GX, Dong XL, et al. Research status of two-photon calcium imaging of cortical neuronal functions in non-human primates [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(7): 949-954.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.07.010

双光子钙成像技术在非人灵长类动物大脑皮层 神经元功能的研究现状

孙伟铭^{1,2,3,4}, 刘观秀^{3,4}, 董香丽⁵, 冯珍^{3,4}, 马朝林^{1,2*}

(1. 南昌大学生命科学学院, 南昌 330031; 2. 南昌大学生命科学研究院, 南昌 330031; 3. 南昌大学第一附属医院康复医学科, 南昌 330006; 4. 南昌大学第一临床医学院, 南昌 330031; 5. 南昌大学第二附属医院心身医学科, 南昌 330006)

【摘要】 钙离子是生物体神经系统中重要的信使,可产生多种细胞信号,对神经元兴奋性的调控起着关键作用;钙离子在明确的细胞亚区发挥着高度特异性功能。钙信号间接反映神经元的活性,检测神经元钙信号对研究大脑皮层功能尤为重要。双光子钙成像技术对检测大脑皮层中的钙信号有独特的优势,可在体以单细胞分辨率实时观测皮层神经元的活动。研究非人灵长类动物的大脑皮层对提高人类神经系统的高级认知、精神疾病的治疗及推动康复医学的发展有重大意义。本文综述了双光子钙成像技术在非人灵长类动物皮质功能研究中的应用。

【关键词】 双光子钙成像技术;非人灵长类动物;大脑皮层;神经生物学

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2022) 07-0949-06

Research status of two-photon calcium imaging of cortical neuronal functions in non-human primates

SUN Weiming^{1,2,3,4}, LIU Guanxiu^{3,4}, DONG Xiangli⁵, FENG Zhen^{3,4}, MA Chaolin^{1,2*}

(1. College of Life Sciences, Nanchang University, Nanchang 330031, China. 2. Institute of Life Sciences, Nanchang University, Nanchang 330031. 3. Department of Rehabilitation Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006. 4. the First Clinical School, Nanchang University, Nanchang 330031. 5. Department of Psychosomatic Medicine, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang University, Nanchang 330006)

Corresponding author: MA Chaolin. E-mail: chaolinma@ncu.edu.cn

【Abstract】 Calcium ions are important messengers in the nervous system, which produce various cellular signals and play an important role in the regulation of neuronal excitability. Calcium ions in the clear cell area perform highly specific functions. Calcium signals indirectly reflect the activity of neurons, calcium signal detection in neurons is especially important to study cerebral cortex functions. Two-photon calcium imaging in the cerebral cortex has a unique advantage by revealing real-time *in vivo* activity of cortical neurons at the single cell resolution. This article reviews the application of two-photon calcium imaging in the study of cortical functions in non-human primates.

【Keywords】 two-photon calcium imaging; nonhuman primates; cerebral cortex; neurobiology

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

【基金项目】 国家自然科学基金项目(31760276, 31960171), 江西省自然科学基金项目(20171BAB204019, 20192ACB20022), 江西省研究生创新专项资金项目(YC2021-B021)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (31760276, 31960171), Jiangxi Natural Science Foundation (20171BAB204019, 20192ACB20022), Jiangxi Provincial Graduate Student Innovation Special Fund Project (YC2021-B021).

【作者简介】 孙伟铭(1989—), 男, 博士, 讲师, 主管技师, 研究方向: 认知神经生物学与神经康复。Email: sunweiming@email.ncu.edu.cn

【通信作者】 马朝林(1967—), 男, 博士, 教授, 研究员, 研究方向: 认知神经生物学。Email: chaolinma@ncu.edu.cn

钙离子可以产生多种细胞信号,介导着多条信号通路的传导,对神经元的调控起着关键作用^[1]。当皮层神经元受到刺激时,胞内钙离子的浓度会发生变化,随即转化为细胞信号,引起细胞响应。钙信号间接反映神经元的活性,精确测量钙离子利于对神经元功能的研究。目前,检测钙信号比较常见的方法有双光子钙成像、光纤记录和深脑显微钙成像等技术^[2]。双光子钙成像起初是一项用于记录啮齿类动物体内神经活动的高分辨率技术,尤其在啮齿类动物视觉皮层的研究中发挥了重要的作用^[3-5]。近年来,研究人员克服了由非人灵长类动物大脑的大小、曲率、生理脉动和免疫系统防御作用等问题带来的挑战^[6],成功将双光子钙成像技术应用用于非人灵长类动物大脑皮层的研究。

非人灵长类动物的大脑皮层是生物体的高级中枢,具有多种高级功能^[7],是研究人类高级认知功能和神经康复机制的理想模型动物。在早期非人灵长类动物大脑皮层功能的研究中,常使用电生理技术来研究皮层神经元的活动。该技术存在着若干不足,如在长期记录神经元活动方面相对不稳定,电极的位置会随着时间改变导致多次记录的神经元不一致,影响信号记录^[8]。双光子钙成像技术可在较大程度上弥补电生理技术主要不足,使单个细胞反应特性可被准确检测。采用双光子钙成像技术检测各皮层神经元的钙信号,为探索神经元的功能提供帮助。本文就双光子钙成像技术在非人灵长类动物大脑皮层神经元功能的研究现状作一综述。

1 双光子钙成像技术概述

神经元钙成像技术的原理就是借助钙离子浓度与神经元活动之间的严格对应关系,利用特殊的荧光染料或者蛋白质荧光探针,将神经元当中的钙离子浓度通过荧光强度表现出来,从而达到检测神经元活动的目的^[9]。

双光子显微镜是结合了激光扫描共聚焦显微镜和双光子激发技术的一种新技术^[10]。双光子显微镜主要由激光发射器、光速扩展器、二向色镜、物镜、探测系统和数据采集系统组成^[11]。双光子激发的基本原理是^[10]:在高光子密度的情况下,荧光分子可以同时吸收 2 个长波长的光子,在经过一个很短的所谓激发态寿命的时间后,发射出一个波长较短的光子;其效果和使用一个波长为长波长一半的

光子去激发荧光分子是相同的。双光子激发需要很高的光子密度,为了不损伤细胞,双光子显微镜使用高能量锁模脉冲激光器。这种激光器发出的激光具有很高的峰值能量和很低的平均能量。在使用高数值孔径的物镜将脉冲激光的光子聚焦时,物镜的焦点处的光子密度是最高的,双光子激发只发生在物镜的焦点上,所以双光子显微镜不需要共聚焦针孔,提高了荧光检测效率。

双光子钙成像技术有许多优点,例如具有高分辨率的特性,可以在亚细胞水平上探索神经元;不仅可以观测到神经元和胶质细胞的活动,还可以观测到树突和轴突的功能结构和动态变化^[6];并且还可以在同一脑区对几百个神经元的活动进行监测^[12];还允许对清醒非人灵长类动物进行长时程观测^[13-14],在该模型动物大脑皮层研究中得到了广泛的应用。

2 非人灵长类动物脑功能研究的重要性

在康复医学临床实践中,中枢神经系统受损的患者大多会伴有认知功能障碍等高级脑功能受损表现。虽然,已有非侵入性神经调控、认知功能障碍训练等多种康复治疗技术手段可帮助患者改善认知功能,但具体神经元机制尚不明确。大脑皮层神经元编码机制的深入研究对康复治疗技术的优化至关重要。非人灵长类动物的脑结构和认知功能、感官系统等脑功能与人有高度的相似性^[15],利用非人灵长类动物的高级脑功能来解释认知功能的机制很有必要,这将推动康复医学的长足进步。

3 双光子钙成像技术在非人灵长类动物大脑皮层研究中的应用

3.1 在视觉皮层研究中的应用

3.1.1 视觉皮层的可塑性

突触的稳定性严重影响脑回路的功能,并可能是维持神经元功能特性的完整性所必需的。与此同时,在感知学习过程中观察到的皮层反应的改变或感觉输入的中断可能是由于需要突触可塑性的连接性的变化造成的。前人对成人大脑皮层突触稳定性的研究主要集中在树突上,但轴突的变化程度尚不清楚。为探究这个问题,Stettin 等^[16]重复对猕猴初级视觉皮层(V1)进行双光子成像,发现轴突大规模的分支模式是稳定的,但每周都有 1 个与末端扣相关的小分支(small branches),以及 1 个传递

扣的子集出现和消失。为适应经验改变,大脑的可塑性会延伸到初级感觉皮层区域,这在感觉丧失后的相应皮层改变中表现得最为显著。Marik 等^[17]使用双光子钙成像研究成年猕猴视网膜病变后病变投射区(lesion projection zone, LPZ)神经元的结构变化,发现位于病变投射区内的抑制性神经元的轴突经过修剪(pruning)和生长(growth)跨越了病变投射区的界限。证明病变投射区的抑制性神经元通过轴突结构的变化与周围区域产生的兴奋相平衡。这就引出了一个问题:视网膜病变后出现的轴突变化是否也可以解释知觉学习过程中发生的功能改变。而后,该团队为解决这个问题在猕猴知觉学习过程中对轴突进行双光子成像,发现在与视觉训练相关视皮层区域神经元的轴突树枝发生了发芽(sprouting)和修剪(pruning)^[18]。这表明轴突树枝结构的变化是知觉学习回路机制的组成的一部分,为学习到的信息至少部分编码在初级视觉皮层的观点提供了新的依据。

3.1.2 视觉皮层的功能性

(1) 颜色识别功能

从视网膜锥光感受器输入的信息包括形状和颜色,在初级视觉皮层转换为方向选择性和颜色选择性。对此,一般模型认为颜色和方向是由初级视觉皮层的不同神经元提取的。事实上,结果是相反的。Garg 等^[19]使用双光子钙成像探测了一个非常大的彩色视觉刺激空间,并以单细胞分辨率绘制了数千个神经元的功能微结构。发现相对于消色差刺激,V1 神经元更倾向于均匀颜色和定向选择,结果表明 V1 中单个神经元可以精确并明确地编码颜色和方向,方向和颜色是由重叠神经元环路相互处理的。该研究还发现在 V1 中,细胞更喜欢红色和蓝色,但未能识别斑点之间的颜色异质性。有研究通过电生理技术表明标准颜色通路从 V1 的 CO 斑点通过 V2(次级视觉皮层)的 CO 细条纹传递到 V4(第四视觉皮层)的颜色专一区域和后颞下皮层(PIT),然而解剖颜色模块中的色调映射是如何随着从 V1 到 V4 的分层处理而进化的尚不清楚。为研究此问题,Liu 等^[20]对清醒猕猴 V1、V2 和 V4 的钙信号进行了更高分辨率的双光子成像。发现与 V1 相比,V2 中的色素特异性细胞聚集增强。一种在 V1 中清晰的端谱(红蓝)响应现象,在 V2 中消退,而在 V4 中几乎不存在。这表明视觉皮层中对色差的处理是具有层次性的,由每个区域统一的点

状结构对颜色进行表征。与此类似,Chatterjee 等^[21]给予猕猴不同空间均匀的颜色刺激,同时使用双光子钙成像技术检测 V1 神经元的活动,发现对空间均匀的颜色刺激有反应的神经元形成了明确的簇,与斑点相一致。运用双光子成像清晰地展示了颜色表征的结构。非人灵长类动物的脑结构和认知功能、感官系统等脑功能与人有高度的相似性^[15],人类在色彩空间的 3 个维度上感知数百万种颜色:色相、亮度和色度。大脑皮层中这些特定的维度是如何代表的,以及它们之间是如何联系的尚不清楚。为研究这些问题,Li 等^[22]使用双光子钙成像对 V1 区神经元进行成像,发现色调和亮度在皮质图上呈正交方向排列,色度由神经元反应的强度表示。

(2) 选择性特征

视觉皮层的神经元不仅对颜色有选择性,还对一些特征,如定向、眼部优势和空间频率具有高度选择性。定向和空间频率调谐是 V1 神经元的显著特征。这些特殊的皮层空间调谐特性的组合组织将强烈地塑造 V1 群体对不同视觉输入的反应,但具体是如何组织的尚不清楚。Nauhaus 等^[23]利用双光子钙成像展示了猕猴 V1 的空间频率和方向调谐的 3D 细胞逐个细胞布局,并对其结构进行了更深的观察和研究,推断出方向和空间频率映射是密切相关的。然而,这个观点在最近的研究中受到反驳,Guan 等^[24]利用双光子钙成像以单细胞分辨率构建了 5 只清醒固定猕猴 V1 浅层的第一个空间频率图,并研究了空间频率神经元的调节特征和功能组织特性。发现空间频率有关神经元在 V1 猕猴中的聚集性太弱的结果,这无法支持 Nauhaus 的观点:空间频率和方向功能映射正交重叠。Nauhaus 等^[25]还通过双光子钙成像揭示了猕猴 V1 区空间频率和眼优势之间:空间频率和眼优势区域梯度平行,但各自具有独特的空间周期。Chen 等^[26]使用双光子钙成像揭示了首选空间频率的局部可变性与整体空间射频之间的联系:V1 的首选空间频率和感受场的大小差异很大,随着偏心度以尺度不变的方式增加。证明了表面 V1 中的体系结构可以用一个集成比例不变感受野的模型来描述,称之为集合比例不变。

猴 V1 中的大部分神经元都是根据刺激方向调整的。不同的 V1 神经元偏好不同的方向和调节强度。V1 神经元是如何通过定向调节强度来排列的,

以及神经元定向调节强度的排列是否与定向偏好图有关,目前仍存在争议。Ikezoe 等^[27]通过双光子钙成像检测了单细胞水平上方向调节的局部空间组织。发现 V1 第 2 层和第 3 层附近的神经元在偏好方向和调谐强度方面都很相似。在邻近神经元间偏好取向不同的区域(如取向断裂),定向调节强度较弱,而在偏好取向相似的区域(即取向域),定向调节强度不同。后来发现 V2 中也存在方向选择性神经元,Hu 等^[28]通过猴 V2 区的双光子钙成像详细描述了猕猴方向选择神经元的反应特性。与之类似,Ju 等^[29]利用双光子钙成像研究了 5 只清醒猕猴 V1 浅层的方向功能神经元的微观结构(microstructures)和群体调节特性。

(3) 形状识别功能

形状提取是物体识别的关键,是灵长类视觉皮层的主要功能之一。许多视觉皮层的神经元能选择性地对复杂的形状特征做出反应,然而这些形状选择神经元的分布仍不清楚。叶芷^[15]利用双光子钙成像首次对 V1 区中发现了弧形视觉刺激有特异反应的弧形识别神经元。Guan 等^[30]用双光子钙成像记录了清醒猕猴对光栅和平台的 V1 反应,结果表明格子和光栅反应神经元是不同的亚群。Tang 等^[31]用双光子钙成像观察到 V4 的亚毫米功能域,其中包含的神经元更偏好曲线轮廓而不是直线轮廓。Jiang 等^[32]利用双光子钙成像以单细胞分辨率证实了曲线或角选择神经元在空间上聚集成功能域。

3.1.3 视觉皮层的结构特点

感觉信息处理的一个基本原则是,大脑必须通过减少处理相同信息的神经元的数量来优化效率。神经元群中感觉表征的稀疏性反映了神经编码的效率^[33]。Tang 等^[33]对非人灵长类动物呈现大量的自然视觉刺激,同时使用双光子钙成像来检查表层 V1 区大量神经元的反应。发现,有 0.5% 的神经元对任何给定的自然图像都有明显的反应,证明了 V1 区神经编码是超稀疏和高效的。Ikezoe 等^[34]在向猕猴展示自然电影剪辑的同时利用双光子钙成像技术记录了来自 V1 区神经元的荧光信号。对于每个记录下来的神经元,构建了一个编码模型。进一步分析发现,V1 区附近神经元间兴奋性射频亚场(excitatory RF subfields)的范围和分布是共享的,而抑制性射频亚场(suppressive RF subfields)的范围和分布不同。证明他们的编码模型分析应用于神经

元对自然电影反应的双光子钙成像,提供了一种可靠和有效的方法来分析局部区域多个成像神经元的广泛感受野特性。

3.2 在其他大脑皮层研究中的应用

(1) 躯体感觉皮层:Sadakane 等^[35]使用双光子钙成像技术检测了躯体感觉皮层中树突和轴突对特定触觉刺激的选择性活动,证明了神经元对触觉刺激的反应可以在亚细胞分辨率成像。Santisakultarm 等^[36]使用双光子钙成像技术纵向显示了躯体感觉皮层表面以下 500 μm 的血管系统和神经元。对清醒和麻醉猕猴大脑血流动力学和神经活动进行了研究。丁冉^[37]利用双光子钙成像技术记录猕猴躯体感觉皮层神经元树突树突棘钙信号特点。

(2) 运动皮层:行为动物的双光子钙成像技术揭示了在单细胞分辨率下与行为和认知功能相关的神经元活动。Ebina 等^[38]训练头部固定的普通猕猴执行上肢运动任务和同时对运动皮层 2/3 层神经元进行双光子钙成像,并在细胞和亚细胞分辨率下检测多个神经元的任务相关活动。Trautmann 等^[39]通过双光子钙成像技术对恒河猴的顶端树突成像,实现了对通过背侧前运动区和脑回初级运动皮质的大量深层和浅表皮层神经元的神经元环路。

(3) 听觉皮层:Zeng 等^[40]利用体内双光子钙成像来检测麻醉猕猴的初级听觉皮层(A1)神经元种群的张力偏好,发现猕猴 A1 神经元在宏观和微观水平上都以张力位的方式分布。在初级听觉皮层中存在特定物种的局部张力位组织,这种组织可能对灵长类动物大脑的听觉回路的组织很重要。

(4) 前额叶皮层:Xie 等^[41]利用双光子钙成像技术记录猕猴在执行序列记忆过程中,前额叶皮层数千个神经元的活动。发现序列记忆维持期间的神经活动状态空间,由相互正交的顺序子空间(rank subspace)构成,每个事件(item)存储在对应的顺序子空间中,各顺序子空间采用分布式群体编码。该研究揭示了大脑神经元群存储序列记忆的简单编码规则。

4 总结与展望

近年来,双光子钙成像技术在研究神经元的功能方面变得越来越重要。随着新钙指示剂的发现和植入式人工硬膜窗设计的成功^[42],双光子钙成像技术在非人灵长类动物大脑皮层功能结构研究中

起到了巨大的推动作用。尽管该技术得到了广泛的应用,但仍存在一些局限性。例如:该技术目前仅能观测到皮层表层,想要观测更深的皮层还比较难;另外使用该技术时,受双光子显微镜体积的影响,清醒非人灵长类的活动会受到限制,这使行为认知活动与神经元活动之间联系的研究受到了很大的限制。该技术下一步发展可能会与梯度折射率透镜折射系统 (GRIN) 结合来达到观测更深的皮层的目的;也有望利用微型的双光子显微镜对清醒非人灵长类动物成像,扩大动物的活动范围。将来该技术不仅可以在上述提到的皮层中应用,还可以用于研究更多的脑区,如顶叶和颞叶;或可以做到同时观测多个脑区。除此之外,还可以应用于研究自闭症等神经精神类障碍模式动物。总之,双光子钙成像技术在神经生物学和神经康复领域中是一个很有应用前景的技术,它将推动神经系统研究的快速发展。

参 考 文 献 (References)

- [1] Grienberger C, Konnerth A. Imaging calcium in neurons [J]. *Neuron*, 2012, 73(5): 862–885.
- [2] 李谦, 毕爱玲, 王兴荣, 等. 模型动物神经元钙信号检测技术研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29(1): 104–109.
Li Q, Bi AL, Wang XR, et al. Research and development of *in vivo* detection technology for calcium signals in model animal neurons [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2021, 29(1): 104–109.
- [3] 王聪, 马腾飞, 张晨, 等. 双光子显微镜用于在体监测小鼠视交叉上核 Ca^{2+} 动态变化的方法学研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2017, 52(11): 1583–1587.
Wang C, Ma TF, Zhang C, et al. Methodological study in the dynamic changes of Ca^{2+} signals of suprachiasmatic nucleus *in vivo* with two-photon microscopy [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2017, 52(11): 1583–1587.
- [4] 李谦, 毕爱玲, 刘德政, 等. 双光子钙成像技术在模型动物视皮层 II/III 层神经元功能研究中的应用 [J]. *国际眼科杂志*, 2020, 20(9): 1529–1532.
Li Q, Bi AL, Liu DZ, et al. Roles of two-photon calcium imaging technology for visual cortex II/III layer neurons in model animals [J]. *Int Eye Sci*, 2020, 20(9): 1529–1532.
- [5] 张文豪, 李建军, 杨德刚, 等. 双光子显微镜在小动物活体光学成像中的研究进展 [J]. *中国康复理论与实践*, 2017, 23(1): 37–41.
Zhang WH, Li JJ, Yang DG, et al. Research progress of two-photon microscopy in small animals *in vivo* imaging (review) [J]. *Chin J Rehabil Theory Pract*, 2017, 23(1): 37–41.
- [6] Choi J, Goncharov V, Kleinbart J, et al. Monkey-MIMMS: towards automated cellular resolution large-scale two-photon microscopy in the awake macaque monkey [J]. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*, 2018, 2018: 3013–3016.
- [7] 黄志伟. 非人灵长类动物模型的开发与应用 [A]. 2019 年生殖毒理学理论及科技产品研发学术交流大会暨 2019 年中国实验灵长类养殖开发协会第五届二次全体会员大会论文集 [C]; 2019.
Huang ZW. The development and application of non-human primate models [A]. 2019 reproductive toxicology pharmacology theory and technology and scientific product R&D academic exchange conference and 2019 china experimental primate breeding and development association fifth second general assembly proceedings [C]; 2019.
- [8] Stringer C, Pachitariu M, Steinmetz NA, et al. Inhibitory control of correlated intrinsic variability in cortical networks [J]. *eLife*, 2016, 5: e19695.
- [9] 史娟, 李继硕. 细胞内钙成像和钙测定的基本原理及应用 [J]. *神经解剖学杂志*, 2006, 22(4): 455–462.
Shi J, Li JS. Basic principle and application of intracellular calcium imaging and calcium determination [J]. *Chin J Neuroanat*, 2006, 22(4): 455–462.
- [10] 李培. 基于共聚焦原理的双焦面双光子荧光显微成像系统研究 [D]. 武汉: 华中科技大学; 2018.
Li P. Study on two-photon fluorescence microscopic imaging system with dual focal plane based on confocal principle [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology; 2018.
- [11] Birkner A, Konnerth A. Deep two-photon imaging *in vivo* with a red-shifted calcium indicator [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1929: 15–26.
- [12] Heider B, Nathanson JL, Isacoff EY, et al. Two-photon imaging of calcium in virally transfected striate cortical neurons of behaving monkey [J]. *PLoS One*, 2010, 5(11): e13829.
- [13] Ju N, Jiang R, Macknik SL, et al. Long-term all-optical interrogation of cortical neurons in awake-behaving nonhuman primates [J]. *PLoS Biol*, 2018, 16(8): e2005839.
- [14] Li M, Liu F, Jiang H, et al. Long-term two-photon imaging in awake macaque monkey [J]. *Neuron*, 2017, 93(5): 1049–1057.
- [15] 叶芷. 猕猴初级视觉皮层中弧形识别神经元的发现与研究 [D]. 北京: 北京协和医学院; 2017.
Ye Z. Discovery and research of arc recognition neurons in primary visual cortex of *Macaca mulatta* [D]. Beijing: Peking Union Medical College; 2017.
- [16] Stettler DD, Yamahachi H, Li W, et al. Axons and synaptic boutons are highly dynamic in adult visual cortex [J]. *Neuron*, 2006, 49(6): 877–887.
- [17] Marik SA, Yamahachi H, Meyer zum Alten Borgloh S, et al. Large-scale axonal reorganization of inhibitory neurons following retinal lesions [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(5): 1625–1632.
- [18] van Kerkoerle T, Marik SA, Meyer zum Alten Borgloh S, et al. Axonal plasticity associated with perceptual learning in adult macaque primary visual cortex [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(41): 10464–10469.
- [19] Garg AK, Li P, Rashid MS, et al. Color and orientation are

- jointly coded and spatially organized in primate primary visual cortex [J]. *Science*, 2019, 364(6447): 1275–1279.
- [20] Liu Y, Li M, Zhang X, et al. Hierarchical representation for chromatic processing across macaque V1, V2 and V4 [J]. *Neuron*, 2020, 108(3): 538–550.
- [21] Chatterjee S, Ohki K, Reid RC. Chromatic micromaps in primary visual cortex [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2315.
- [22] Li M, Ju N, Jiang R, et al. Perceptual hue, lightness, and chroma are represented in a multidimensional functional anatomical map in macaque V1 [J]. *Prog Neurobiol*, 2022, 212: 102251.
- [23] Nauhaus I, Nielsen KJ, Disney AA, et al. Orthogonal micro-organization of orientation and spatial frequency in primate primary visual cortex [J]. *Nat Neurosci*, 2012, 15(12): 1683–1690.
- [24] Guan SC, Ju NS, Tao L, et al. Functional organization of spatial frequency tuning in macaque V1 revealed with two-photon calcium imaging [J]. *Prog Neurobiol*, 2021, 205: 102120.
- [25] Nauhaus I, Nielsen KJ, Callaway EM. Efficient receptive field tiling in primate V1 [J]. *Neuron*, 2016, 91(4): 893–904.
- [26] Chen Y, Ko H, Zemelman BV, et al. Uniform spatial pooling explains topographic organization and deviation from receptive-field scale invariance in primate V1 [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 6390.
- [27] Ikezoe K, Mori Y, Kitamura K, et al. Relationship between the local structure of orientation map and the strength of orientation tuning of neurons in monkey V1: a2-photon calcium imaging study [J]. *J Neurosci*, 2013, 33(42): 16818–16827.
- [28] Hu J, Ma H, Zhu S, et al. Visual motion processing in macaque V2 [J]. *Cell Rep*, 2018, 25(1): 157–167.
- [29] Ju NS, Guan SC, Tao L, et al. Orientation tuning and end-stopping in macaque V1 studied with two-photon calcium imaging [J]. *Cereb Cortex*, 2021, 31(4): 2085–2097.
- [30] Guan SC, Zhang SH, Zhang YC, et al. Plaid detectors in macaque V1 revealed by two-photon calcium imaging [J]. *Curr Biol*, 2020, 30(5): 934–940.
- [31] Tang R, Song Q, Li Y, et al. Curvature-processing domains in primate V4 [J]. *eLife*, 2020, 9: e57502.
- [32] Jiang R, Andolina IM, Li M, et al. Clustered functional domains for curves and corners in cortical area V4 [J]. *eLife*, 2021, 10: e63798.
- [33] Tang S, Zhang Y, Li Z, et al. Large-scale two-photon imaging revealed super-sparse population codes in the V1 superficial layer of awake monkeys [J]. *eLife*, 2018, 7: e33370.
- [34] Ikezoe K, Amano M, Nishimoto S, et al. Mapping stimulus feature selectivity in macaque V1 by two-photon Ca^{2+} imaging: Encoding-model analysis of fluorescence responses to natural movies [J]. *NeuroImage*, 2018, 180: 312–323.
- [35] Sadakane O, Masamizu Y, Watakabe A, et al. Long-term two-photon calcium imaging of neuronal populations with subcellular resolution in adult non-human primates [J]. *Cell Rep*, 2015, 13(9): 1989–1999.
- [36] Santisakultarn TP, Kersbergen CJ, Bandy DK, et al. Two-photon imaging of cerebral hemodynamics and neural activity in awake and anesthetized marmosets [J]. *J Neurosci Methods*, 2016, 271: 55–64.
- [37] 丁冉. 快速 GABA 干预在细胞、亚细胞及受体水平抑制活体动物癫痫发作的机制研究 [D]. 天津: 天津医科大学; 2018.
- Ding R. The mechanism of rapid GABA intervention in inhibiting seizures in cellular, subcellular and receptor levels in living animals [D]. Tianjin: Tianjin Medical University; 2018.
- [38] Ebina T, Masamizu Y, Tanaka YR, et al. Two-photon imaging of neuronal activity in motor cortex of marmosets during upper-limb movement tasks [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1879.
- [39] Trautmann EM, O'shea DJ, Sun X, et al. Dendritic calcium signals in *Rhesus macaque* motor cortex drive an optical brain-computer interface [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3689.
- [40] Zeng HH, Huang JF, Chen M, et al. Local homogeneity of tonotopic organization in the primary auditory cortex of marmosets [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(8): 3239–3244.
- [41] Xie Y, Hu P, Li J, et al. Geometry of sequence working memory in macaque prefrontal cortex [J]. *Science*, 2022, 375(6581): 632–639.
- [42] Trautmann E, O'Shea DJ, Shrestha S, et al. Design of an implantable artificial dural window for chronic two-photon optical imaging in non-human primates [J]. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*, 2015, 2015: 7554–7557.

[收稿日期] 2022-03-02