

ラット前脳の脳定位アトラス

A stereotaxic atlas of the rat forebrain

杉本翔哉 石田順子 田中康裕

SUGIMOTO Shoya ISHIDA Junko TANAKA R. Yasuhiro

要 旨

Iar: Long-Evans 系統のラットは、行動課題を利用した神経科学領域の研究を日本国内で行う場合に広く使用されている。行動課題中に多領域・多細胞からの神経活動記録を行うことは、行動中の脳活動のダイナミクスを知る上で非常に重要である。このような実験で精確に目的部位からの記録を実現するためには、脳構造の位置が手術中に知りうる座標系で示されることが望ましい。脳定位アトラスはまさにそれを実現したものであるが、これまでに出版されているラット脳定位アトラスは Wistar 系統・SD 系統に基づくものが主であり、Iar: Long-Evans 系統の組織標本に基づくラット脳定位アトラスがあれば実験を設計する上で有用である。そこで、生体の手術時に用いることができる座標系と脳組織標本とを併せた脳定位アトラスを作成した。本稿ではその方法論と脳定位アトラスの一部を提示する。

Keywords : ラット、Iar: Long-Evans 系統、脳定位アトラス

1. 序論

Long と Evans はおよそ 100 年前にアルビノラットと野生の灰色ラットを交雑し、黒いフードを被ったような体毛が特徴的な Long-Evans 系統を作出した。Long-Evans 系統は、視力が良い (Prusky et al., 2002)、行動量が多い、学習が比較的早い (Turner & Burne, 2014) などの利点があり、今なお神経科学の研究で頻繁に使用されているモデル動物である (Dhawale et al., 2021; Luo et al., 2020; Roy et al., 2021; Tervo et al., 2021)。日本では 1984 年に Monash 大学から東北大学実験動物施設に導入されたものが 1996 年に動物繁殖研究所に導入された。この系統は Iar: Long-Evans 系ラットとして、日本 SLC を通じて入手することができるようになり、広く使用されてきた (Nakamura et al., 2015; Shikano et al., 2021; Terada et al., 2017)。

神経科学の研究では、しばしば、特定の脳領域の神経活動を計測するために電極などを埋め込んだり、脳領域の相互結合を明らかにするために標識物質を注入したり

する。このような特定の脳領域を標的とした操作を実現するために、定位脳手術が行われてきた。定位脳手術は、頭部を専用の器具に固定した状態で、電極やキャピラリー管などを保持したマニピュレーターの位置・角度を、頭蓋骨表面に基準を置く座標系で調整して再現性良く脳手術を行う手法である。この際に参考にされるのが、一般に脳定位アトラスと呼ばれる解剖地図である (例えば、Paxinos & Watson, 2007)。

脳定位アトラスは、組織標本などから得られた脳の断層像と、定位脳手術に用いられる座標系を組み合わせたものである。これにより、目的とする神経核・皮質領域などの座標を手術時に知ることができ、開頭位置やマニピュレーターの脳表での刺入位置・角度・深度を計画することが可能となる。

ラットの脳定位アトラスとして、Wistar 系統 (Paxinos & Watson, 2007) と SD 系統 (Swanson, 2018) の組織標本に基づくものが出版されている。Johnson et al. (2021) がまとめたように Wistar 系統については MRI を用いたアトラスも複数作成されている。Long-

Evans 系統については組織標本に基づく水平断のアトラスが公表されているが、断面が限られている (Benkhart, 1977)。近年 MRI を用いて作成されたアトラス (Kjonigsen et al., 2011; Wisner et al., 2016) も発表されたが、組織標本に比べると空間解像度が低く、細胞構築もわからないため、我々の実験系で手術計画に用いるには不十分であった。

今回、我々が普段、行動実験や電気生理実験に用いているラット (Iar: Long-Evans 系統) の生体脳に物理的に痕跡を残し、その直後にホルムアルデヒドで固定したのち、冠状断あるいは矢状断標本作製した。得られた脳標本から神経核の同定に十分な解像度を持つ組織像と生体手術に適用可能な座標系を両立した脳定位アトラスを作成した。本稿では、アトラス作成の方法論と実際の脳定位アトラスの一部を示す。

2. 方法

2.1. 動物

全ての動物実験は玉川大学動物実験委員会の承認のもと、「玉川大学動物実験に関する規程」に則って行われた。検体として、7匹の Iar: Long-Evans 系統ラット (10-11 週齢、動物繁殖研究所) を使用した。飼育室は気温 22-24℃、湿度 50-60%、明期間 12 時間 (点灯 8:00、消灯 20:00) とした。また、飼育は可能な限り複数飼 (2-3 匹/ケージ) で、水分と飼料を自由に摂取できる状態で行った。

2.2. 手術

動物の体重を測定後、密閉容器内で十分な量のイソフルランにより麻酔を施した。感覚刺激に対する反応がないことを確認したあと、イヤーパーを外耳に挿入し、頭部を固定した (SR-10AR, NARISHIGE)。麻酔導入機 (Anes II YS-18, バイオマシナリー) を使用して、2-2.5% のイソフルランをラットに吸入させ、麻酔状態を維持した。頭部固定後、皮膚を切開して、頭蓋骨表面のブレグマとラムダを露出した。ラムダは後頭部の頭蓋骨縫合線であるラムダ縫合に沿った曲線と中央の頭蓋骨縫合線である矢状縫合の交点と定めた (Paxinos et al., 1985)。また、ブレグマとラムダの高さが水平になるように頭部位置を調整したうえで、ブレグマ・ラムダ間の距離 (BL 間距離) を計測した (Fig. 1A)。歯科用ドリルを使用して、ブレグマを基準に左右 4 対、計 8 か所 (AP: +2.0 mm,

RL: ±2.0 mm; AP: -1.0 mm, RL: ±2.0 mm; AP: -3.0 mm, RL: ±2.0 mm; AP: -6.0 mm, RL: ±2.0 mm) に穴を開けて、Vibrant™ DiI Cell-Labeling Solution (DiI; V22885, Thermo Fisher Scientific) を塗布した 27G の注射針 (NN-2738R, TERMO) をブレグマ (頭蓋骨表面) から 6.0 mm の深さまで挿入した (AP は前後方向でブレグマより前側を正、ブレグマより後ろを負とした。RL は左右方向で、正中線から右側を正に取った。また、深さ方向は正中線に垂直でブレグマとラムダを含む平面をゼロ面として脳底側を正とした)。

2.3. 標本作成及び画像取得

手術後、3-5% イソフルランで麻酔をかけながら、250 mM のスクロースと 5 mM の MgCl₂ を含む 0.02 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4) 約 50 mL に続けて、4% のパラホルムアルデヒドを含むリン酸ナトリウム緩衝液 (4% PFA; pH 7.4) を使用し、経心腔的に還流固定した。取り出した脳を 4% PFA に浸し、常温下で 30-45 分間振盪させたのち、2-5℃ で 24 時間の後固定を施した。ピプラトーム (VT1000 S, Leica) を使用して、厚さ 50 μm の脳切片を作成した。切片はトリス緩衝生理食塩水 (0.05 M TBS; pH 7.4) に浸漬し、冷蔵庫で保管した。冠状断切片作成時には、手術時の座標を参考にして針跡が切断面と平行になるように切断し、その切断面を下にして台座に接着剤で固定してスライスした。矢状断切片作成時には、正中線に沿って切断し、その切断面を下に固定してスライスした。続いて、蛍光ニッスル (1:1000, NeuroTrace500/525, N21480, Thermo Fisher Scientific) で脳切片を染色し、封入した (VECTASHIELD Mounting Medium, H-1000, Vector Laboratories)。撮影には電動ステージを搭載した倒立顕微鏡 (IX83, OLYMPUS) のタイリング機能 (インスタント MIA, cellSens, OLYMPUS) を用いた。4 倍の対物レンズを使用し (UPlanFLN 4X, NA = 0.13, OLYMPUS)、画像データは CCD カメラ (DP80, OLYMPUS) により取得した。得られた組織画像は Adobe Photoshop を使用して、単調増加的な入出力関係を保つように階調を補正し、必要に応じて階調を反転して表示した。

2.4. 画像解析

組織像上のグリッドや境界線のプロットは Adobe Illustrator により作成した。グリッド線は、生体に残した針跡を参考にプロットした。撮影した画像上で、針跡

の先端が検出できる冠状断切片・矢状断切片の針跡の間隔を計測した。冠状断では AP: +2.0 mm, -1.0 mm, -3.0 mm, -6.0 mm の各切片で観察される左右の針跡の間隔が、生体では 4.0 mm であったものとして膨張収縮率を計算した。矢状断では RL: ± 2.0 mm の切片で観察される 4 本の針跡の両端が、生体では 8.0 mm あったものとして、膨張収縮率を計算した。得られた膨張収縮率を個別の脳について平均して、個別の膨張収縮率 ($n = 7$) とした。このようにして求めた生体でのスケールを用いて、1 mm 間隔のグリッドをプロットした。

2.5. 統計

すべてのデータは平均 \pm 標準偏差で示した。1 標本 t 検定の P 値 (両側確率)、ピアソンの相関係数 R と、その P 値は MATLAB (MathWorks) を用いて計算した。

3. 結果

3.1. 冠状断・矢状断組織像

切片を蛍光ニッスルで染色し切片全体を撮影することで、主要な神経核の細胞構築を観察できる解像度の冠状断及び矢状断の前脳連続切片画像を取得した。

ラットの手術・固定時の日齢は、 74 ± 2 日であり、体重は 386 ± 22 g, BL 間距離は 8.3 ± 0.5 mm, 固定後の大脳皮質の前後長 (前頭極から後頭葉の後端まで) は、 16.1 ± 0.8 mm であった。体重と BL 間距離の間には強い相関がみられた ($R = 0.91$, $P = 0.003$)。その他の指標間には有意な相関は見られなかった ($P > 0.05$)。冠状断切片・矢状断切片ともに、0.45 mm 以内の範囲にかけて針跡が観察された。針の外径が 0.41 mm であることから、それぞれ冠状面・矢状面に対してほぼ平行に切断されたと考えられる。組織標本の作製による生体からの収縮膨張率は $101.8 \pm 4.3\%$ ($n = 7$, $P = 0.34$, 100% からの差についての 1 標本 t 検定) であった (Fig. 1B, C)。このことから、今回の組織標本は生体脳とほぼ変わらない大きさと考えられる。しかし、白質部分を通過する針跡はやや湾曲しており (Fig. 1B, C)、灰白質や白質などの組織性状の違いにより固定やその後の処理による収縮膨張に違いがあることが示唆された。

我々の組織標本によるアトラスは、これまでに報告されているラット脳と概ね同様の構造を示しているが、脳梁 (corpus callosum) に違いが見られた (Fig. 1D)。Fig. 1D 右にある通り、6 匹の Wistar 系統ラット

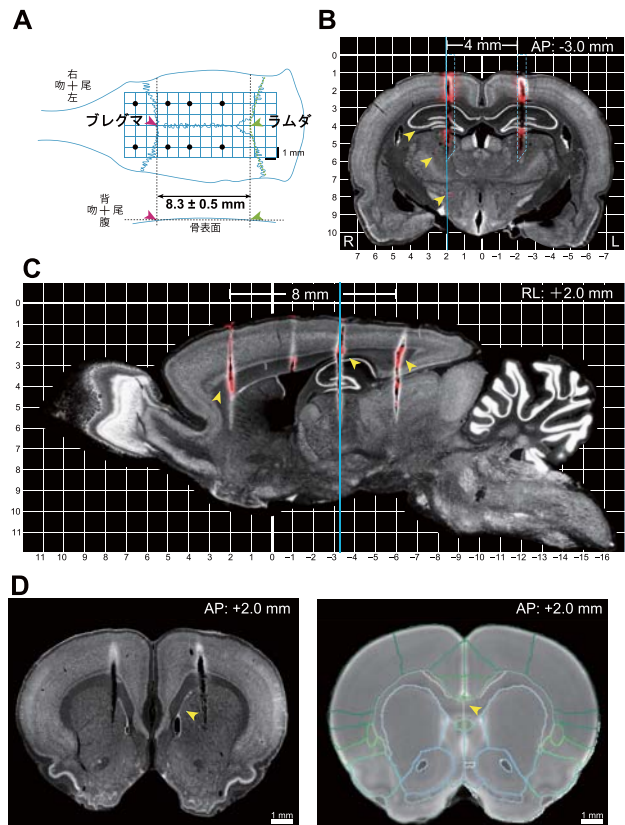


Fig. 1, 手術方法の概要・グリッド描画と切断面 A. 頭蓋骨模式図と針の挿入座標を示す。冠状縫合と矢状縫合の交点をプレグマとし (矢頭、マゼンタ)、矢状縫合とラムダ縫合に沿った曲線の交点をラムダと定めた (矢頭、黄緑)。黒点は針の挿入箇所を示す (グリッド幅: 1 mm)。各図左の十字は解剖学的な方向を示す。B. 冠状断切片の例を示す。座標の零点をプレグマに定め、正中面 (垂直太線、白) 及び、正中面に垂直でプレグマ・ラムダを通る平面 (水平の太線、白) を基準軸として 1 mm 間隔のグリッドを表示した (細線、白)。縦軸はプレグマからの深さを正に取る座標系、横軸は正中線から右側を正に取る座標系を表す。シアン破線は手術中に挿入した針の位置と向きを仮想的に表している。左右を区別するために、右脳に Dil を塗布した注射針を切断面に対して垂直に挿入している (矢頭、黄色)。C. 矢状断切片の例を示す。座標の零点をプレグマに定め、正中面に垂直でプレグマ・ラムダを通る平面 (水平の太線、白)、及び、プレグマを通る冠状面 (垂直の太線、白) を基準軸として 1 mm 間隔のグリッドを表示した (細線、白)。縦軸は B と同じ座標系を表す。横軸は前後方向でプレグマより前側を正、プレグマより後ろを負とした座標系を表す。針跡が白質を境に曲がっていることから、還流固定によって白質が湾曲したと考えられる。(矢頭、黄色)。B, C 中のシアンの実線は、矢状断 (B) あるいは冠状断 (C) の切断面を仮想的に表示している。D. 左: AP: +2.0 の冠状断切片。右: +2.0 の MRI 冠状断画像 (Johnson et al., 2021)。本研究で得られた切片組織像では AP: +2.0 mm で脳梁が分離している。一方、Wistar 系統ラットの MRI 画像では、脳梁が分離せずに正中線を横断している (Fig. 1D)。MRI の冠状断画像は、Johnson et al. (2021) に掲載されている CIVM VoxPort Image v3.0 からダウンロードし、一部画像を改変し掲載した (https://civmvoxport.vm.duke.edu/voxbase/login.php?return_url=%2Fvoxbase%2Fstudyhome.php%3Fstudyid%3D754)。また、Fig. 1D 右はクリエイティブコモンズフレームワーク (CC BY-NC-SA 4.0; <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/legalcode>) のもとで利用可能である。

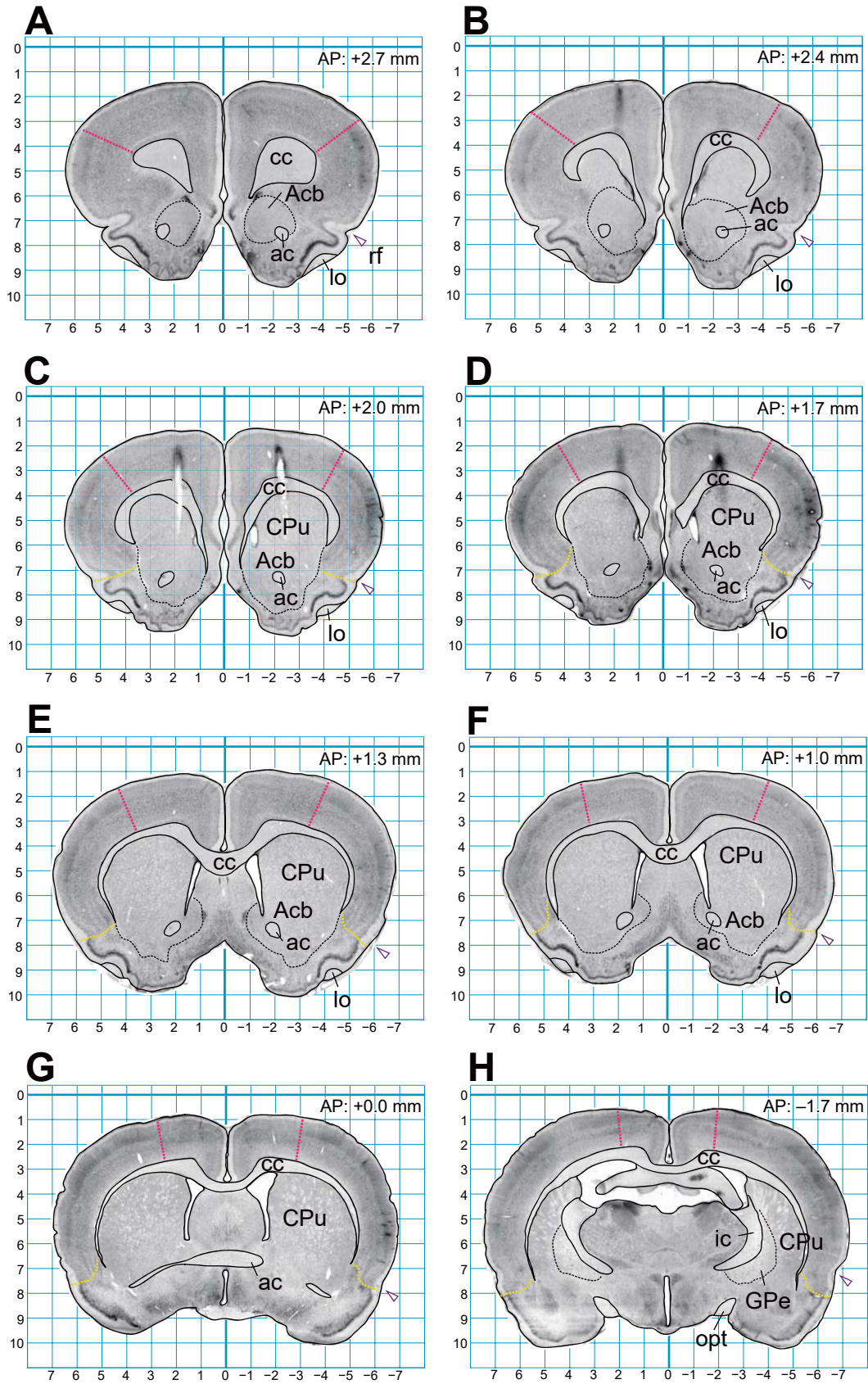
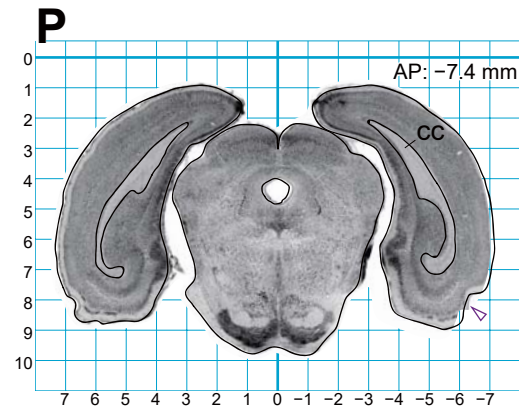
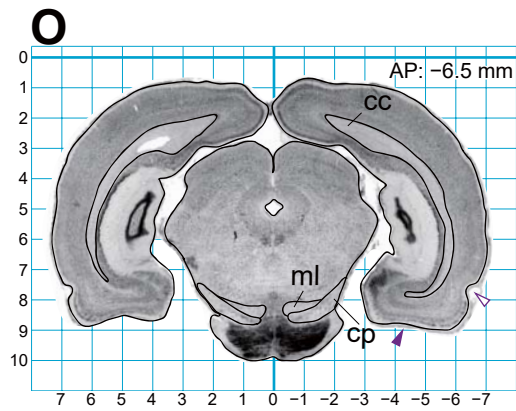
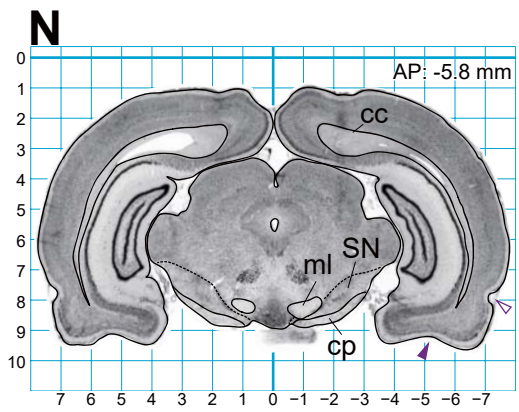
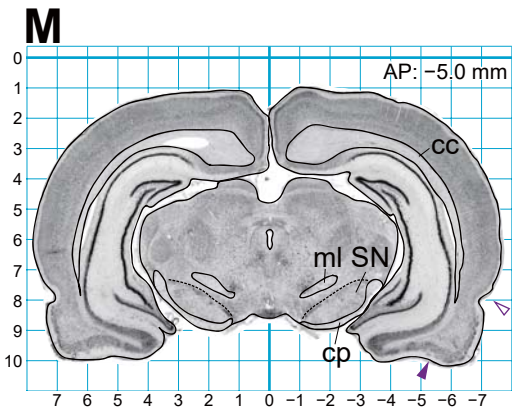
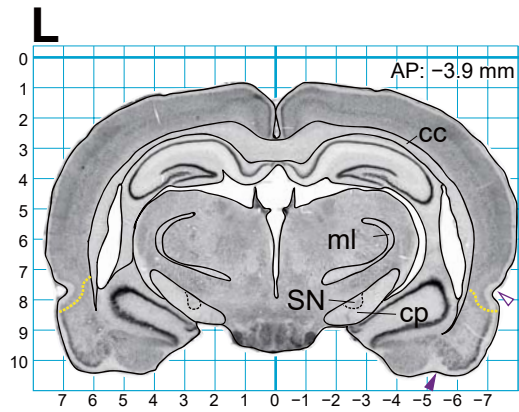
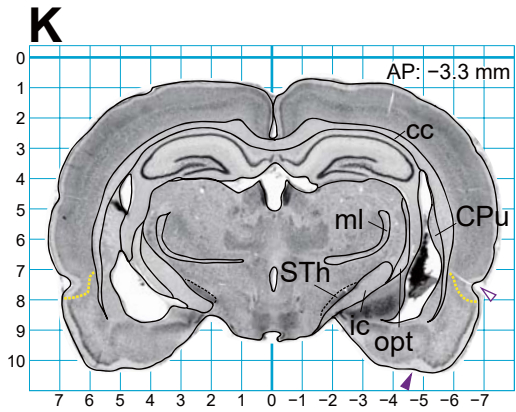
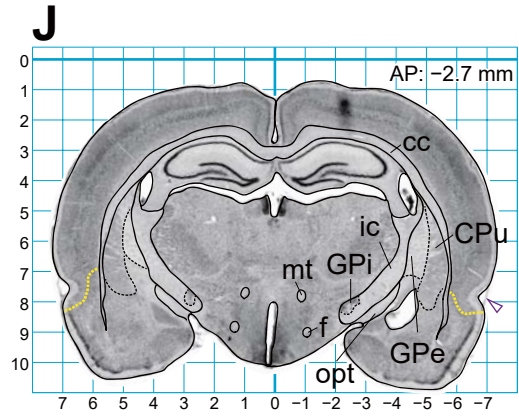
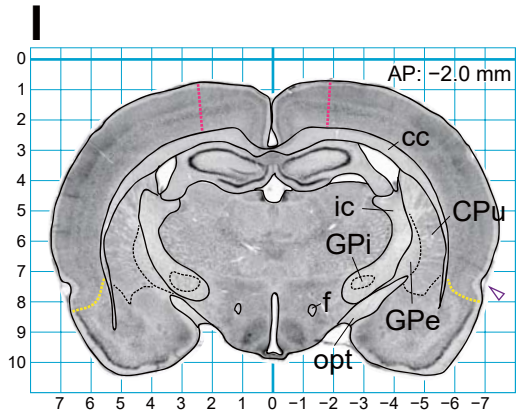


Fig. 2. 冠状断アトラス A-P. 座標系については Fig. 1B と同様である。切片上の実線は脳表・脳室・神経線維の境界線、点線は大脳基底核および皮質領野の境界線を表す。皮質領野の境界は顆粒皮質と無顆粒皮質の境界（破線、マゼンタ）および島皮質（K, L では嗅内野）と梨状皮質の境界（破線、黄色）のみを示した。矢頭は嗅脳裂（白）と扁桃裂（紫）を表す。略号:ac (anterior commissure, 前交連)、Acb (nucleus accumbens, 側坐核)、af (amygdaloid fissure, 扁桃裂)、cc (corpus



callosum, 腦梁)、cp (cerebral peduncle, 大腦脚)、CPu (caudate putamen, 線索体)、f (fornix, 腦弓)、GPe (globus pallidus external segment, 淡蒼球外節)、GPi (globus pallidus internal segment, 淡蒼球內節)、ic (internal capsule, 內包)、lo (lateral olfactory tract, 外側嗅索)、ml (medial lemniscus, 內側毛帶)、mt (mammillothalamic tract, 乳頭体視床索)、opt (optic tract, 視索)、rf (rhinal fissure, 嗅腦裂)、SN (substantia nigra, 黑質)、STh (subthalamic nuclei, 視床下核)

(361 ± 7.5 g) から得られた MRI アトラス (Johnson et al., 2021) では AP: +2.0 mm で左右の線維がつながっている。しかし、Iar: Long-Evans 系統ラットは左右の線維が離れ、小鉗子 (forceps minor) と呼ばれる構造になっていた (Fig. 1D 左)。ブレグマ+2.0 mm にさした針の位置を参考として脳梁の左右の線維が正中線を超えるレベル (以下、脳梁—小鉗子平面) を計測するとブレグマ+1.7 ± 0.3 mm ($n = 7$) であった。

3.2. 組織構造

脳梁及びその他の線維構造

脳梁 (corpus callosum) は明瞭に判別することができた (Fig. 2)。前交連 (anterior commissure) も明瞭に区別でき (Fig. 2A–G)、AP: -0.1 mm 付近で左右をつないでいた (Fig. 2G)。内包 (internal capsule; Fig. 2H–K)・視索 (optic tract; Fig. 2H–K)・乳頭視床束 (mammillothalamic tract; Fig. 2J)・脳弓 (fornix; Fig. 2I–J)・内側毛帯 (medial lemniscus; Fig. 2K–O)・外側嗅索 (lateral olfactory tract; Fig. 2A–F)・大脳脚 (cerebral peduncle; Fig. 2L–O) の線維の境界が明確に区別できた。

大脳皮質

顆粒皮質と無顆粒皮質の境界をはっきりと区別できた (Fig. 2A–I, マゼンタ破線)。また、大脳新皮質の層構造も観察できた。梨状皮質第2層は、細胞密度が高く蛍光強度が高いため、他の皮質と明瞭に区別できた (Fig. 2C–L, 黄破線)。脳表面の嗅脳裂 (rhinal fissure; Fig. 2, 白矢頭)・扁桃裂 (amygdaloid fissure; Fig. 2K–O, 紫矢頭) は大きく、扁桃裂は尾側まではっきりと観察された。

海馬錐体細胞層は細胞密度が高く、海馬の基本構造が明瞭に確認できた (Fig. 2I–O)。背側海馬では、CA1 の錐体細胞が CA3 の大錐体細胞に変化する過程が確認できた。苔状細胞 (mossy cell) が広がる門の構造も明瞭に確認できた (Fig. 2L–M)。

大脳基底核

矢状断では線条体特有の線条構造が観察できた (Fig. 1C)。被殻・尾状核 (caudate putamen; Fig. 2A–K) と側坐核 (nucleus accumbens; Fig. 2A–F) の境界は蛍光ニッスル染色のみでは判別が難しかった。視床下核 (subthalamic nucleus; Fig. 2K)・黒質網様部 (substantia nigra pars reticulata; Fig. 2L–N)、黒質緻密

部 (substantia nigra pars compacta; Fig. 2M–N) が明瞭に区別できた。淡蒼球外節 (globus pallidus external segment; Fig. 2H–J) は線条体の内側に、淡蒼球内節 (globus pallidus internal segment [entopeduncular nucleus]; Fig. 2I, J) は、内包に包まれていた。

視床

手綱核 (habenular nucleus; Fig. 2I–K) は細胞密度が高く明瞭に区別できた。視床網様核 (thalamic reticular nucleus; Fig. 2I–L) が内包の内側に確認できた。その他、前核群・正中核群・髄板内核群・腹側核群などの主な核が細胞密度により区別できた (Fig. 2H–M)。外側膝状体、内側膝状体も構造と細胞密度から区別できた (Fig. 2K–O)。

視床下部

視床下部 (Fig. 2G–M) においても、視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus; Fig. 2H)、腹内側核 (ventromedial hypothalamic nucleus; Fig. 2J–K)、室傍核 (paraventricular hypothalamic nucleus; Fig. 2I) は特に核の輪郭が明瞭に観察できたほか、弓状核 (arcuate nucleus; Fig. 2J–L) などの核が細胞密度や構造から区別できた。正中隆起 (median eminence; Fig. 2J, K) や乳頭核 (mammillary nucleus; Fig. 2M) も構造から明確に認められた。

4. 考察

ラットの冠状断・矢状断組織像を作成し、生体での座標軸に基づきプロットしたアトラスを作成した。さらに主な線維と灰白質の境界線、大脳基底核の諸核の境界線、皮質領野の際立った境界線などを引いた。

ラットのアトラスとして標準的な The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates (Paxinos & Watson, 2007; 以下、PW アトラス) を今回作成したアトラスと比較したところ、Wistar 系統と Iar: Long-Evans 系統では神経核の構造や配置は一見して似通っている。しかし、一部に構造の差異が見られた。今回調べた Iar: Long-Evans では脳梁—小鉗子平面 (冠状断で脳梁が左右に分かれるように見える平面) がブレグマ+1.7 mm 程度であった。PW アトラスでは同様の構造は AP: +2.52–2.28 mm (PW アトラスの Fig. 13–14) となる。また、我々が用いたのと同程度の体重の Wistar 系統のラット 6 匹を用いた MRI

アトラスでは、AP: +2.2 mm 付近で同様の構造が確認できる。このMRIアトラスを報告した論文によると、6匹の動物間では、平均画像と単一個体から得られた画像にほとんど違いがなく、よく一致した (Johnson et al., 2021) とあり、この違いは Wistar 系統のラットの個体差によるものではないと推察される。

今回我々が用いた Iar: Long-Evans 系統のラットは日齢、体重、BL 間距離、大脳皮質の前後長といった4つの指標で変動係数 (標準偏差を平均値で割った値) が5%程度であった。また、体重とBL間距離には強い相関が認められ、体重の増加とともに骨格が大きくなることが示唆された。一方で、固定後の大脳皮質長はBL間距離ほどに体重との相関は見られず、この週齢では脳のサイズの変化と頭蓋骨のサイズの変化が必ずしも同じように起こるわけではないことが示唆された。今回調べた7匹中6匹のラットで AP: +2.0 mm の針よりもブレグマ側に脳梁—小鉗子平面があることが確認された。そのため、脳梁—小鉗子平面が Wistar 系統のラットよりも後ろにあることは、今回用いた Iar: Long-Evans 内の個体差とは考えにくい。また、この計測は生体で直接痕跡を残した AP: +2.0 mm の針を起点として計測しているため、固定や標本作成による歪みに起因するとも考えにくい。したがって、Iar: Long-Evans 系統の脳梁—小鉗子平面の位置は Wistar 系統のそれに比べて、ややブレグマ側に位置していると考えられる。

脳梁—小鉗子平面の位置が繁殖系統により異なるかは興味のある問題である。Iar: Long-Evans 系統と同様の白黒毛色の Long-Evans 系統ラットとして国内で購入可能なラインに Crlj: LE (日本チャールス・リバー) がある。これを用いて検討することで、繁殖系統間の差についてある程度答えることができるだろう。

近年、MRI を用いたアトラスが多く発表されている (Johnson et al., 2021, 表1)。それに対し、本研究では4% PFA を用いた組織標本によるアトラスを作成した。MRI を用いた方法では撮像後に色々な断面を観察することができる点で理想的である。しかし、生体では揺れが問題となり解像度が下がるため、頭部のみを造影剤入りのホルマリンで固定した標本で撮像することが多く (Johnson et al., 2021)、生体からの収縮膨張の程度は明らかでない。また、様々な撮像法を駆使してコントラストを付けられる神経核もあるが、現時点では組織標本に比べると空間解像度は低い。固定標本を用いることの利点は、空間解像度のみではない。今回は蛍光ニッスル染

色により、主要な線維や神経核を判別するにとどまったが、細胞種や神経核に特異的に発現しているタンパク質を同一の切片あるいは隣接する切片で免疫染色することで、細胞構築だけでは判別が難しい神経核や皮質領野の境界をより正確に判別できる (Ueta et al., 2019)。また、歪みの少ない固定法や細い針を用いて侵襲性の少ない痕跡を残すなどを検討することで、より精度の高いアトラスを作成することが期待できる。

脳全体の構造を定量的に議論することは、これまでヒトでは多くなされてきた (Glasser et al., 2016; Lawrence et al., 2021)。それに比べて、マウスを除く哺乳類の動物モデルでは手法上の問題もあり、あまり議論されてこなかった。しかし、Neuropixels に代表される CMOS プローブやイメージングなどにより脳のグローバルな活動を取ることが可能となってきた現在 (Lecoq et al., 2019; Steinmetz et al., 2018)、実験計画を立てる上でも、またその実験結果を解釈するうえでも、重要性が増してくるだろう。小動物用の MRI や固定脳の透明化 (Gómez-Gaviro et al., 2020) などの最新技術も動員して、効率よく進めていくことが重要であろう。

5. 結論

7匹のラット (Iar: Long-Evans 系統) を用いて、組織標本に基づいたラット脳アトラスを作成した。標本の作製法などには改善の余地があり、また、実験を具体的に計画する際には、使用するラットの週齢や体重によって実施する研究者が試行錯誤する必要は残る。しかし、この前脳アトラスは本邦で広く使われている Iar: Long-Evans 系統のラットについて初めて発表されるものであり、この系統を用いた脳定位手術や電気生理実験を計画する際に有用なものになると期待される。

6. 謝辞

川口泰雄博士をはじめ研究室員との日々の議論やメンバーからの技術支援、及び玉川大学脳科学研究所・学術研究所促進室の皆様からの様々な支援により本研究を発表することができました。特に、Fransiscus Adrian Agahari 博士、任翔堯博士には実験手技・機器操作について多くのご指導を頂きました。ここに深く感謝いたします。なお、本研究は、科研費 (21K18563, 20H05073, 20H03357) からの助成を受けて行われました。

参考文献

- Benkhart, B. S. (1977). *A STEREOTAXIC ATLAS OF THE RAT BRAIN*. CALIFORNIA STATE UNIVERSITY.
- Dhawale, A. K., Wolff, S. B. E., Ko, R., & Ölveczky, B. P. (2021). The basal ganglia control the detailed kinematics of learned motor skills. *Nature Neuroscience*. <https://doi.org/10.1038/s41593-021-00889-3>
- Glasser, M. F., Coalson, T. S., Robinson, E. C., Hacker, C. D., Harwell, J., Yacoub, E., Ugurbil, K., Andersson, J., Beckmann, C. F., Jenkinson, M., Smith, S. M., & Van Essen, D. C. (2016). A multi-modal parcellation of human cerebral cortex. *Nature*, *536*(7615), 171–178. <https://doi.org/10.1038/nature18933>
- Gómez-Gaviro, M. V., Sanderson, D., Ripoll, J., & Desco, M. (2020). Biomedical Applications of Tissue Clearing and Three-Dimensional Imaging in Health and Disease. *iScience*, *23*(8), 101432. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101432>
- Johnson, G. A., Laoprasert, R., Anderson, R. J., Cofer, G., Cook, J., Pratson, F., & White, L. E. (2021). A multicontrast MR atlas of the Wistar rat brain. *NeuroImage*, *242*, 118470. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2021.118470>
- Kjonigsen, L. J., Leergaard, T. B., Witter, M. P., & Bjaalie, J. G. (2011). Digital Atlas of Anatomical Subdivisions and Boundaries of the Rat Hippocampal Region. *Frontiers in Neuroinformatics*, *5*. <https://doi.org/10.3389/fninf.2011.00002>
- Lawrence, R. M., Bridgford, E. W., Myers, P. E., Arvapalli, G. C., Ramachandran, S. C., Pisner, D. A., Frank, P. F., Lemmer, A. D., Nikolaidis, A., & Vogelstein, J. T. (2021). Standardizing human brain parcellations. *Scientific Data*, *8* (1), 78. <https://doi.org/10.1038/s41597-021-00849-3>
- Lecoq, J., Orlova, N., & Grewe, B. F. (2019). Wide. Fast. Deep: Recent Advances in Multiphoton Microscopy of *In Vivo* Neuronal Activity. *The Journal of Neuroscience*, *39* (46), 9042–9052. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1527-18.2019>
- Luo, T. Z., Bondy, A. G., Gupta, D., Elliott, V. A., Kopec, C. D., & Brody, C. D. (2020). An approach for long-term, multi-probe Neuropixels recordings in unrestrained rats. *eLife*, *9*, e59716. <https://doi.org/10.7554/eLife.59716>
- Nakamura, H., Hioki, H., Furuta, T., & Kaneko, T. (2015). Different cortical projections from three subdivisions of the rat lateral posterior thalamic nucleus: A single-neuron tracing study with viral vectors. *European Journal of Neuroscience*, *41* (10), 1294–1310. <https://doi.org/10.1111/ejn.12882>
- Paxinos, G., & Watson, C. (2007). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (6. ed). Academic Press; Elsevier.
- Paxinos, G., Watson, C., Pennisi, M., & Topple, A. (1985). Bregma, lambda and the interaural midpoint in stereotaxic surgery with rats of different sex, strain and weight. *Journal of Neuroscience Methods*, *13* (2), 139–143. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90026-3](https://doi.org/10.1016/0165-0270(85)90026-3)
- Prusky, G. T., Harker, K. T., Douglas, R. M., & Whishaw, I. Q. (2002). Variation in visual acuity within pigmented, and between pigmented and albino rat strains. *Behavioural Brain Research*, *136* (2), 339–348. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(02\)00126-2](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(02)00126-2)
- Roy, N. A., Bak, J. H., Akrami, A., Brody, C. D., & Pillow, J. W. (2021). Extracting the dynamics of behavior in sensory decision-making experiments. *Neuron*, S0896627320309636. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.12.004>
- Shikano, Y., Ikegaya, Y., & Sasaki, T. (2021). Minute-encoding neurons in hippocampal-striatal circuits. *Current Biology*, *31* (7), 1438–1449. e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.01.032>
- Steinmetz, N. A., Koch, C., Harris, K. D., & Carandini, M. (2018). Challenges and opportunities for large-scale electrophysiology with Neuropixels probes. *Current Opinion in Neurobiology*, *50*, 92–100. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2018.01.009>
- Swanson, L. W. (2018). *Brain maps 4.0—Structure of the rat brain: An open access atlas with global nervous system nomenclature ontology and flatmaps*. *Journal of Comparative Neurology*, *526*

- (6), 935–943. <https://doi.org/10.1002/cne.24381>
- Terada, S., Sakurai, Y., Nakahara, H., & Fujisawa, S. (2017). Temporal and Rate Coding for Discrete Event Sequences in the Hippocampus. *Neuron*, *94* (6), 1248–1262. e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.05.024>
- Tervo, D. G. R., Kuleshova, E., Manakov, M., Proskurin, M., Karlsson, M., Lustig, A., Behnam, R., & Karpova, A. Y. (2021). The anterior cingulate cortex directs exploration of alternative strategies. *Neuron*, S0896627321001987. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.03.028>
- Turner, K. M., & Burne, T. H. J. (2014). Comprehensive Behavioural Analysis of Long Evans and Sprague-Dawley Rats Reveals Differential Effects of Housing Conditions on Tests Relevant to Neuropsychiatric Disorders. *PLoS ONE*, *9* (3), e93411. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093411>
- Ueta, Y., Sohn, J., Agahari, F. A., Im, S., Hirai, Y., Miyata, M., & Kawaguchi, Y. (2019). Ipsi-and contralateral corticocortical projection-dependent subcircuits in layer 2 of the rat frontal cortex. *Journal of Neurophysiology*, *122* (4), 1461–1472. <https://doi.org/10.1152/jn.00333.2019>
- Wisner, K., Odintsov, B., Brozoski, D., & Brozoski, T. J. (2016). Ratat1: A Digital Rat Brain Stereotaxic Atlas Derived from High-Resolution MRI Images Scanned in Three Dimensions. *Frontiers in Systems Neuroscience*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2016.00064>