OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	行動神経科学研究における実験インフラとしての頭部固定装置のDIY設計と実装
Author(s)	松井, 大
Citation	大阪大学大学院人間科学研究科紀要. 2026, 52, p. 131-142
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/104183
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

行動神経科学研究における実験インフラとしての頭部固定装置の DIY 設計と実装

松井　大

目　次

1. はじめに
2. 3D プリンタを用いたげっ歯類向け頭部固定装置
3. 実験の際の注意点と操作手順
4. その他の周辺機器
5. 適用例：ファイバーフォトメトリー
6. おわりに

行動神経科学研究における実験インフラとしての頭部固定装置の DIY 設計と実装

松井　大

1. はじめに

頭部固定システム（head-fixed system）とは、実験動物の頭蓋骨にヘッドプレートやヘッドバーを外科的に取り付け、それを実験台に固定する実験系である。頭部固定下の実験は、マカクザルをはじめとした霊長類の神経生理学で伝統的に用いられてきたが、およそ 2000 年以降には、げっ歯類（マウスやラット）を対象にした行動・神経科学実験においても急速に普及した。その理由には、頭部固定下では刺激を常に一定の強度・角度で提示可能であるため統制が厳密に可能である点が挙げられる（Guo et al., 2014）。また、電気生理学的測定やカルシウムイメージングといった神経活動記録が安定しやすいといった長所も存在する（e.g., Durand et al., 2023; Yun, Shin, & Jung, 2023）。使用する技術（たとえば 2 光子イメージング）によっては、実質的に頭部固定が必須である場合もある（Hattori & Komiyama., 2022）。これらの背景もあり、頭部固定システムは今や広く利用される実験手法となりつつある。

マウスは実験動物としては小型で扱いやすく、遺伝子改変といった手技も適用しやすい。マウス向けの頭部固定システムは、いくつかの会社から販売されている。しかし、商用のシステムは高価であり、リソースの乏しい研究室にとっては導入コストが難点である。特に、学部学生・院生が学位論文のために実験装置を用いることを想定すると、複数台の導入が必要になることも多く、導入コストは看過できない問題となる。そのようなニーズに対応するように、自作可能なオープンソースの装置も公開されている（Cristino, Mitchell, Preibisz-Kamat, Fletcher, & Spellman, 2025; Weaver, Yousefzadeh, & Tadross, 2023）。これらはいずれも、行動実験・神経計測をする上では十分な精度と安定性を備えていることが示されている。オープンソースのシステムは、部品の大部分を 3D プリンタで造形可能であり、安価に作製できる。しかし、一部に金属部品が用いられており、安定性では勝るが、コスト削減の余地がある。また、未経験の学生にとっては組み立ての複雑さも懸念事項になりうる。より安価、迅速、簡便にシステムを構築できれば、研究の効率化のみならず、演習や卒業研究といった学部教育にさえも容易に導入できるというメリットが期待できる。

そこで本稿では、3D プリンタを用いることで簡便に作製可能な頭部固定システムを

提案することを目的とする。その際、組み立てに必要な作業を最大まで下げつつ、動物を 1 ヶ月以上安定して継続して実験に供することのできるシステムを目指した。ここで紹介する装置の作製に必要な 3D プリントファイルはすべて公開しており、無料で利用可能である（https://github.com/HeathRossie/stlfiles）。非商用目的であれば、改変・再配布も自由に行なっても構わない。

2. 3D プリンタを用いたげっ歯類向け頭部固定装置

2.1 装置の印刷とネジの取り付け

はじめに、必要なデバイス・部品を 3D 印刷する必要がある。実験装置は、動物を固定する台（“head_fix_device.stl”）、固定用バー（“head_fix_ear_bar.stl”）、並びに動物の頭蓋に接着する固定具（“head_fix.stl”）で構成されている（図 1）。これらの 3D ファイルはいずれも、CAD ソフト（Fusion 360, Autodesk）で作成した。著者の場合は、Bambulab 社製の A1 モデルに、純正の PLA フィラメントを用いて 0.08mm 精度の設定で印刷しており、3 時間程度で印刷が完了する。3D プリンタには繊維を熱で溶かし下から積み上げることで造形する積層型と、瞬間的に液体レジンに紫外線を当てることで硬化させる光造形型が存在するが、本稿で紹介するシステムの造形には前者を用いている。一般的に積層型は簡便で材料費も安価であるが、強度や精度は光造形型の方が高い[1)]。固定台・固定バーに関しては積層型で十分であるが、固定具に関しては、長期間使用する場合は光造形型を用いると実験が安定するかもしれない。必要に応じて使い分けることが推奨される。

印刷後の工作として、実験の際にバーを固定するために、固定台にネジを取り付ける必要がある。著者の場合、市販されている M4 ネジを歯科用セメントで接着している（図 2）。その際、ネジ穴にセメントが入らないように注意する必要がある。実際に実験を行う際には、動物を保定した状態で固定用バーを装着し、固定台に動物を移動する。固定バーを台に取り付け、ネジを閉めることで準備が完了する。

2.2 頭部固定具の手術プロトコル

印刷した固定具をマウスに取り付けるには、頭蓋に強固に接着させる必要がある（図 3）。当該手術は、慢性的な神経活動記録のために電極やカニューレを挿入する際の手技と重複しているため、この種の実験を経験したことのある者であれば容易である。まず、麻酔下の動物を脳定位固定装置に置く。麻酔が安定したことを確認した後、頭皮を切開し、表面の血や結合組織を綺麗に除去する。その後、固定具が頭蓋から外れないように、ビスを打ち込む。著者の研究室では、モノタロウで購入可能な M1.0 規格の長さ 3.0mm 精密ネジ（注文コード：29027356）を用いて、合計 5 箇所に打っている（図 3b）。ネジは深さ 1.0mm 程度頭蓋に侵入すれば十分である。骨の継ぎ目（たとえばブレグマやラ

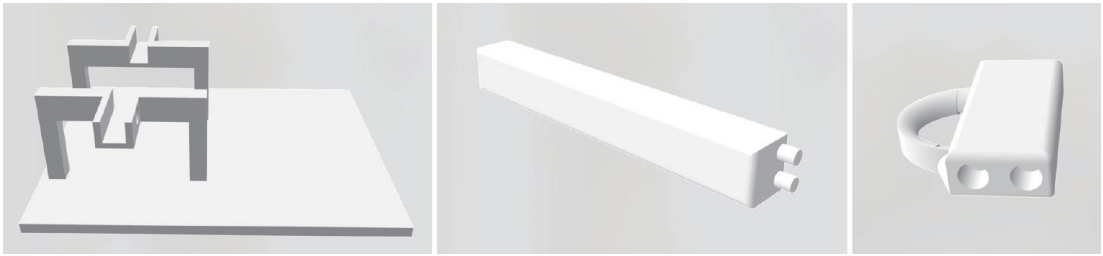


図 1. 本システムの構成部品（左から固定台、固定用バー、並びに固定具）

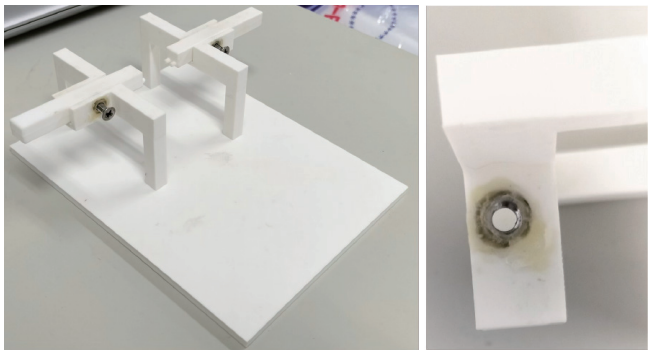


図 2. 固定台へのネジの取り付け

ムダの線）は強度が低いため、打ち込む位置は厚みのある場所を狙うとよい。また、脳定位手術を組み合わせて実験を行う場合は、その箇所は避ける必要がある。

筆者の研究室では、固定具は脳定位固定装置を用いて操作している。マニピュレータの先端にユーティリティワックスを押し付け､固定具を取り付ける｡適当なマニピュレータがなかった場合、それほど水平の精度が重要でなければ、手術者が手で固定したり、市販のアームスタンドで固定具を保持したりするだけでも大きな支障はない。固定具を取り付けたい位置までマニピュレータを動かし、そこで留めておく。頭蓋に瞬間接着剤（アロンアルファ）を微量塗布し、その後、歯科用セメントを頭蓋に盛っていき、固定具が頭部に接着した状態にする。目安としては、ネジが完全に埋まるようセメントで被覆するとよい。その際、なるべくセメントが滑らかになるように盛り付けると、動物の頭部に汚れが溜まりにくく、感染症の予防になる。セメントが硬化し、固定具が安定した状態であることを確認したら、動物をケージに戻し、必要に応じて補液（0.8% 生理食塩水）を腹腔内注射で行う。

なお、一度頭蓋骨にビスを打ち込んだ頭部を歯科用セメントで覆うと、存命下で取り外すのは困難かつ危険である。したがって、ウイルス注入による遺伝子改変などの手術は事前に済ませておく必要がある。カニューレの挿入などは、頭部固定具の取り付けと同日中に実施すれば、セメントの盛る範囲などにミスが出にくいだろう。その場合は、手術時間が長くなりやすいので、動物のバイタルチェックや回復のための補液や体温維

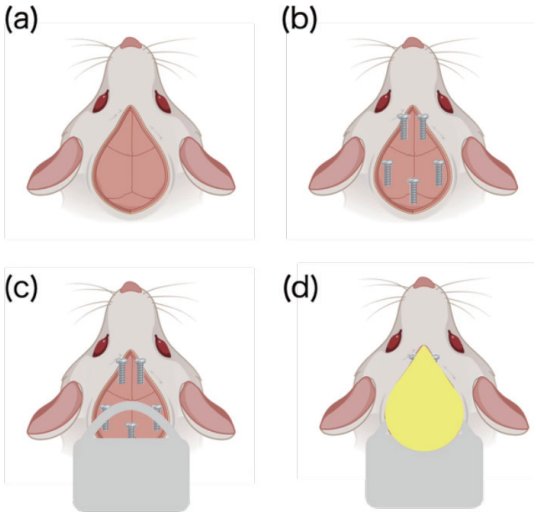


図 3. 固定具取り付け手術の模式図
（a）頭皮の切開（b）ネジの埋め込み（c）固定具の安置（d）歯科用セメントによる被覆
図の作成に bioRender（https://www.biorender.com/）を利用した。

持には注意する必要がある。

3. 実験の際の注意点と操作手順

動物を固定する際の注意点は、腹腔内注射などで動物をハンドリングする際のものとほとんど同じで、過度なストレスを与えないように素早く、力をかけすぎないように行う。著者の場合、動物の尻尾を摘み上げてケージ上の金網に置き、頭部固定具を指で掴みつつ、動物を保定する。その際、上方向やねじる方向へ力をかけると、固定具が頭蓋から外れてしまう恐れがある。固定具を掴んだ手は頭部に対して水平のまま動かさないようにすることで、固定具と頭蓋に対して負担をかけないように保持するとよい。

保定した状態の固定具に、固定バーを取り付けその状態で固定台に動物をゆっくり移動させる。固定バーを固定台にはめ、左右の位置合わせを行う。その後、ネジを留めることでバーが外れないようにすれば頭部固定下での実験準備は完了である。

実験を行う前には、固定具の装着手術から数日間、回復と重さへの馴致の期間をとる。厳密に計測したことはないが、おおよそ一週間もすれば活動の水準が元のレベルとほとんど変わらなくなる。実験を行う前に、頭部を固定されることに馴化させる必要がある。著者の研究室の場合、一日 5 分間頭部を固定する馴化セッションを 3 日程度実施している。目安としては、固定具から脱出しようと走り出す行動と、跳躍を試みなくなれば十分である。

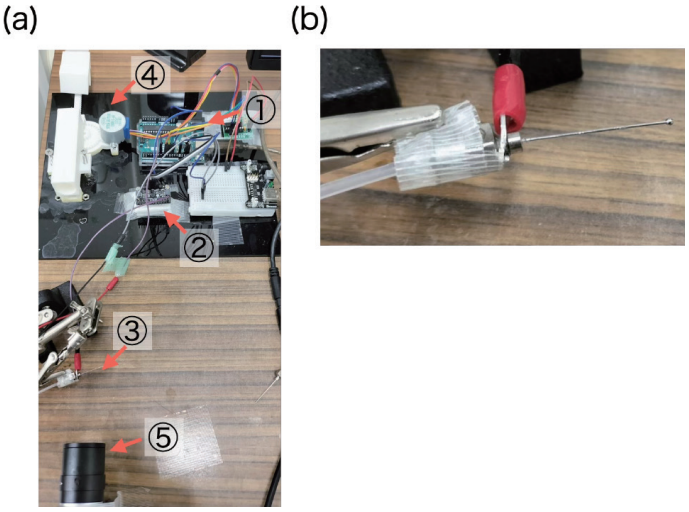


図 4. リッキングセンサート給水ポンプ
（a）①Arduino ②MPR121 タッチセンサー ③溶液提示口
④給水ポンプ
（b）③の拡大写真

4. その他の周辺機器

頭部固定の実験では、他の機器によって刺激を制御したり、報酬提示や反応取得を行ったりすることがほとんどである。そのような実験例は、画像刺激提示による心理物理的実験（Burgess et al., 2017）、体動を反応とした計測した選択課題（Biró, Lasztóczi, & Klausberger, 2019）、リッキング（舐め行動）を反応とした音弁別（Li et al., 2018）など、多岐にわたる。これらの機材も商用のものが各社から販売されており、信頼性の高いものが普及しているが、高価で手が出ないことも多い。特に、学生指導においては、必ずしも獲得している競争的資金のテーマに合致していないこともある上に、その後何年も継続する研究になるとは限らない。そのような事態では、高価な機材の購入に踏み切れないことも多い。そこで著者の場合、リッキングセンサーと味刺激用のポンプを自作することで対応している。

リッキングセンサーは Adafruit 社製の MPR121 センサーを Arduino（Arduino Holding, USA）によって制御している。MPR121 は静電容量式タッチセンサーであり、12 チャンネルの同時計測が可能である。筆者の場合、頭部固定の実験は同時に 2 個体以上では実施していないため、1 チャンネルしか用いていないが、他の食行動の実験では同時に複数のチャンネル用いることもある。実際に使用する際には、センサーのピンに金属製の Y 型端子をハンダづけしたワイヤーを取り付け、それをスパウトの金属部分にペンチで折り曲げることで巻きつけ、導通させている（図 4）。

溶液を味刺激として提示する際に、液体を供給するポンプが必要になる。こちらに

ついては、シリンジ用の 3D プリントファイルが数多く公開されている。たとえば、Thingiverse といったファイル共有ウェブサイトで探してみるとよいだろう（https://www.thingiverse.com/）。筆者の場合、ステッピングモーター（28BYJ-48）で駆動するものを見繕い、Arduino から制御している。

5. 適用例：ファイバーフォトメトリー

本稿で紹介したシステムの 1 つの応用先として、筆者は現在ファイバーフォトメトリー法による神経活動記録と組み合わせて活用している。ファイバーフォトメトリー法では、脳に光ファイバープローブを埋め込み、蛍光強度による神経活動を測定する（詳しくは Kielbinski & Bernacka, 2024）。そのために、関心領域にカルシウムインジケーターとなる蛍光センサーを発現させる。代表的な蛍光センサーとしては GCaMP が挙げられる。筆者の場合、アデノ随伴ウイルス（AAV）経由の遺伝子導入により神経細胞に GCaMP を発現させている。本研究は、大阪大学人間科学研究科動物実験委員会の承認の下、実施している（R6-3-0）。

神経活動が測定できているのかを確認するために、一次味覚野である島皮質に GCaMP を導入し、口腔内に直接、経口ゾンテを挿入し、溶液刺激をおこなった。条件としては、0.5M 濃度のショ糖溶液、純水、経口ゾンテを口腔内に物理的に接触させるだけの 3 条件用意した。筆者が使用している記録システム（TeleFipho, バイオリサーチセンター , 日本）は無線による自由行動下での記録を念頭に置いたものではあるが、頭部固定下なら確実に溶液を口腔内に提示することができるメリットがあり、本稿で紹介したシステムとも相性が良い（図 5）。

結果的に、このセットアップで安定して蛍光強度のシグナルが測定可能であることが確認できた。ファイバーフォトメトリー法では、生のカルシウムシグナル強度（F）を分析することは少なく、基準となる蛍光強度（F0）で正規化した値を用いることが多い（dF/F = (F-F0)/F0）。つまり、活動による変化が何％増えたかを神経応答の強度として用いて分析を行う。今回の実験では、味覚刺激直後から応答が始まり、およそ 10 秒以内にベースラインレベルまで戻る挙動が観察された（図 6a）。

しかし、平均的には、水や物理的接触でも刺激に随伴して活動が上昇しているのがわかる。そこで、刺激の効果を比較するため、刺激から 10 秒までの曲線下面積（area under the curve; 以降、AUC）を求めた。AUC とは、曲線と x 軸の間の面積を積分して求める指標である。その結果、ショ糖溶液刺激で顕著に AUC は高い値を示し、それ以外の条件では瞬間的に応答が上昇してもすぐにベースラインレベルまで戻るか、場合によっては負の値まで減弱することがわかった（図 6b）。ただし、今回の結果は 1 個体のデータに過ぎない上に、応答の分散も大きい。今後、本実験をする際には個体数を適切な数をとりこと、および AAV 注入量の最適化をはかる必要はあるだろう。

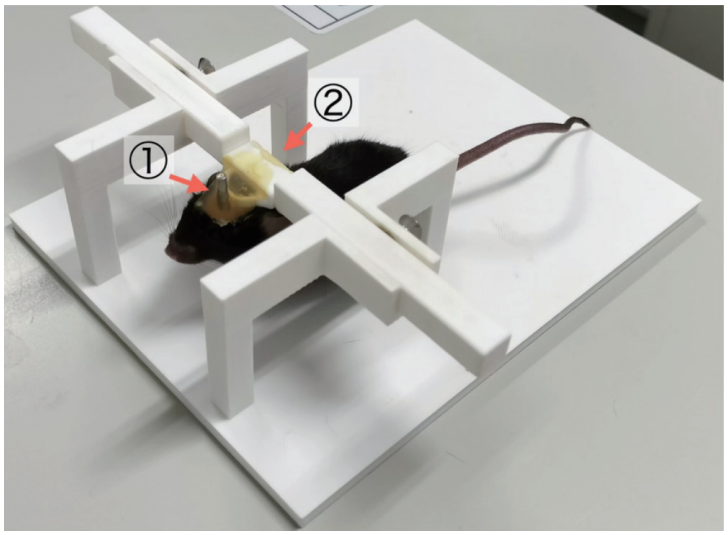


図 5. 頭部固定下のファイバーフォトメトリー
①カニューラ（計測時はここにシグナルの送信機を取り付ける）
②歯科用セメントで接着された固定具

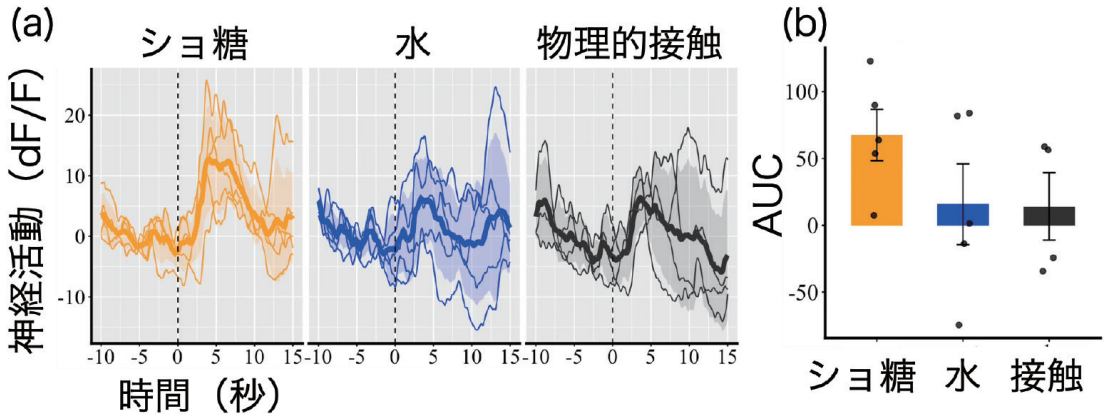


図 6. ショ糖溶液刺激による島皮質の活動（n=1 のデータ）
（a）溶液刺激による神経活動の時間変化。太線は平均値、細線は試行ごとの応答を示す。
（b）刺激開始から 10 秒間の AUC（area under the curve）

6. おわりに

本稿では、近年普及し、コモディティ化しつつある頭部固定の実験システムを 3D プリンタで自作する方法を紹介することを目的とした。それに際し、なるべく単純かつ簡便に作製できるものを提案した。本稿で紹介したシステムは組み立てに必要なのはネジの取り付けだけであり、あとは固定具の取り付け手術の手技を学ぶだけで始めることが

できる。したがって、本稿で紹介したシステムは、未経験の学部学生でも比較的容易に準備できる技術であるといえる。また、3D プリンタはこの 10 年程度で大幅に普及し、導入への障壁が低くなった。その背景には、安価な機体を販売するメーカーが増えたことが挙げられる。性能にもよるが、一般用途のものであれば 10 万円以内で購入可能である（たとえばBambu Lab A1 モデル）。ランニングコストとして必要なフィラメントは、純正品でも 1kg あたり 3000 円程度で購入できる。

実験装置を自作するのは製作や技術習得にかかる時間的なコストがかかり、トラブルシューティングに悩まされがちである。しかし、昨今の物価高騰や研究費の切迫といった現実的な事情を踏まえると、お金が余って仕方のない（？）予算の潤沢な研究室でなければ、装置の導入費用は頭の痛い問題である。また、将来的には精度の高いメーカーの機材に入れ替えることを念頭にデータを取得するという点でも、DIY 装置作製の意義は高い。それに加えて、昨今のオープンサイエンスの流れを踏まえれば、改変可能な形でファイルを公開することは、価値の高い研究実践であると考えられる。

謝辞

本稿を執筆するにあたって、JSPS 科研費（24K16867）の助成を受けた。

注

1）大雑把には、非工業用途の家庭向けプリンタであれば、積層型は 80 μm 程度が最大精度であるが、光造形のものは 20 μm の精度を有することが多い。

引用文献

Biró, S., Lasztóczi, B., & Klausberger, T.（2019）, A visual two-choice rule-switch task for head-fixed mice, *Frontiers in behavioral neuroscience*, 13, 119.

Burgess, C. P., Lak, A., Steinmetz, N. A., Zatka-Haas, P., Reddy, C. B., Jacobs, E. A. K., Linden, J. F., Paton, J. J., Ranson, A., Schröder, S., Soares, S., Wells, M. J., Wool, L. E., Harris, K. D., & Carandini, M.（2017）, High-yield methods for accurate two-alternative visual psychophysics in head-fixed mice, *Cell reports*, 20（10）, 2513–2524.

Cristino, M. H., Mitchell, A. C., Preibisz-Kamat, M., Fletcher, P. S., & Spellman, T. J.（2025）, An Open-Source 3D-Printable Platform for Testing Head-Fixed Cognitive Flexibility in Rodents, *Eneuro*, 12（1）.

Durand, S., Heller, G. R., Ramirez, T. K., Luviano, J. A., Williford, A., Sullivan, D. T., Cahoon, A. J., Farrell, C., Groblewski, P. A., Bennett, C., Siegle, J. H., & Olsen, S. R.（2023）, Acute head-fixed recordings in awake mice with multiple Neuropixels probes, *Nature Protocols*, 18（2）, 424–457.

Guo, Z. V., Hires, S. A., Li, N., O'Connor, D. H., Komiyama, T., Ophir, E., Huber, D., Bonardi, C., Morandell, K., Gutnisky, D., Peron, S., Xu, N., Cox, J., & Svoboda, K.（2014）, Procedures for behavioral experiments in head-fixed mice, *PloS one*, 9（2）, e88678.

Hattori, R., & Komiyama, T.（2022）, Longitudinal two-photon calcium imaging with ultra-large cranial window for head-fixed mice, *STAR protocols*, 3（2）, 101343.

Kielbinski, M., & Bernacka, J.（2024）, Fiber photometry in neuroscience research: principles, applications, and future directions, *Pharmacological Reports*, 76（6）, 1242–1255.

Li, R., Wang, M., Yao, J., Liang, S., Liao, X., Yang, M., Zhang, J., Yan, J., Jia, H., Chen, X., & Li, X.（2018）, Two-photon functional imaging of the auditory cortex in behaving mice: from neural networks to single spines, *Frontiers in Neural Circuits*, 12, 33.

Weaver, I. A., Yousefzadeh, S. A., & Tadross, M. R.（2023）, An open-source head-fixation and implant-protection system for mice, *HardwareX*, 13, e00391.

Yun, M., Shin, J., & Jung, M. W.（2023）, Protocol for calcium imaging of dorsal and ventral CA1 neurons in head-fixed mice, *STAR protocols*, 4（3）, 102439.

DIY Design and Implementation of Head-Fixation Devices as Experimental Infrastructure in Behavioral Neuroscience Research

Hiroshi MATSUI

Head-fixation systems, in which a head plate or bar is surgically implanted on the skull and fixed to a platform, are widely employed in psychology and neuroscience. Although commercial devices are available, their high costs limit accessibility, particularly in resource-constrained laboratories and undergraduate education. To address this issue, I designed and implemented a low-cost, do-it-yourself (DIY) head-fixation system for rodents using 3D printing. The system consists of a base platform, ear bars, and a cranial fixture, all of which can be fabricated with fused deposition modeling printers and assembled with minimal additional work, requiring only screw attachment. The accompanying surgical protocol employs dental cement and miniature screws to ensure long-term stability, enabling behavioral and neural experiments for over one month. I demonstrated the utility of this system by integrating it with fiber photometry recordings in the insular cortex, where reliable calcium signals were obtained in response to gustatory stimulation. The entire set of 3D print files is openly available and modifiable for non-commercial use, lowering technical and financial implementation barriers. This work highlights the potential of open-source, rapidly assembled infrastructures to facilitate head-fixed experiments and broaden accessibility in research and educational contexts.

Keywords: head-fixed system; 3D printing; rodent behavioral experiments; open-source design