**Pontamine Sky Blueによる記録箇所標識**

1. 先端抵抗2–5 MOhm程度のガラス電極に2%Pontamine Sky Blue + 0.5M K-acetate (or sodium-acetate) を充填する。

2. 麻酔下動物の脳にガラス電極を刺入し、神経発火を細胞外記録しながら、脳定位的にガラス電極を目的の脳部位に進める。

3. Pontamine Sky Blueを陰電荷（カソーダルカレント）として、電気泳動的に注入する（-5–7 μA、 3 s half duty cycle、5 min）。回路に抵抗 (10kOhm) を挟み、オシロスコープで実際に流れた電流を電圧として (10 mV/µA) モニターすることが重要！

4. 5 min程度おいた後、電極を抜く。

5. 動物を深麻酔下経心臓的に4%PFA+0.2%PA/PBS pH7.4で灌流固定する。後固定ON。

6. 脱脳し、ビブラトームで50 μm厚に薄切する。

7. Nissl染色で対比染色し、脱水、透徹後、封入する。