

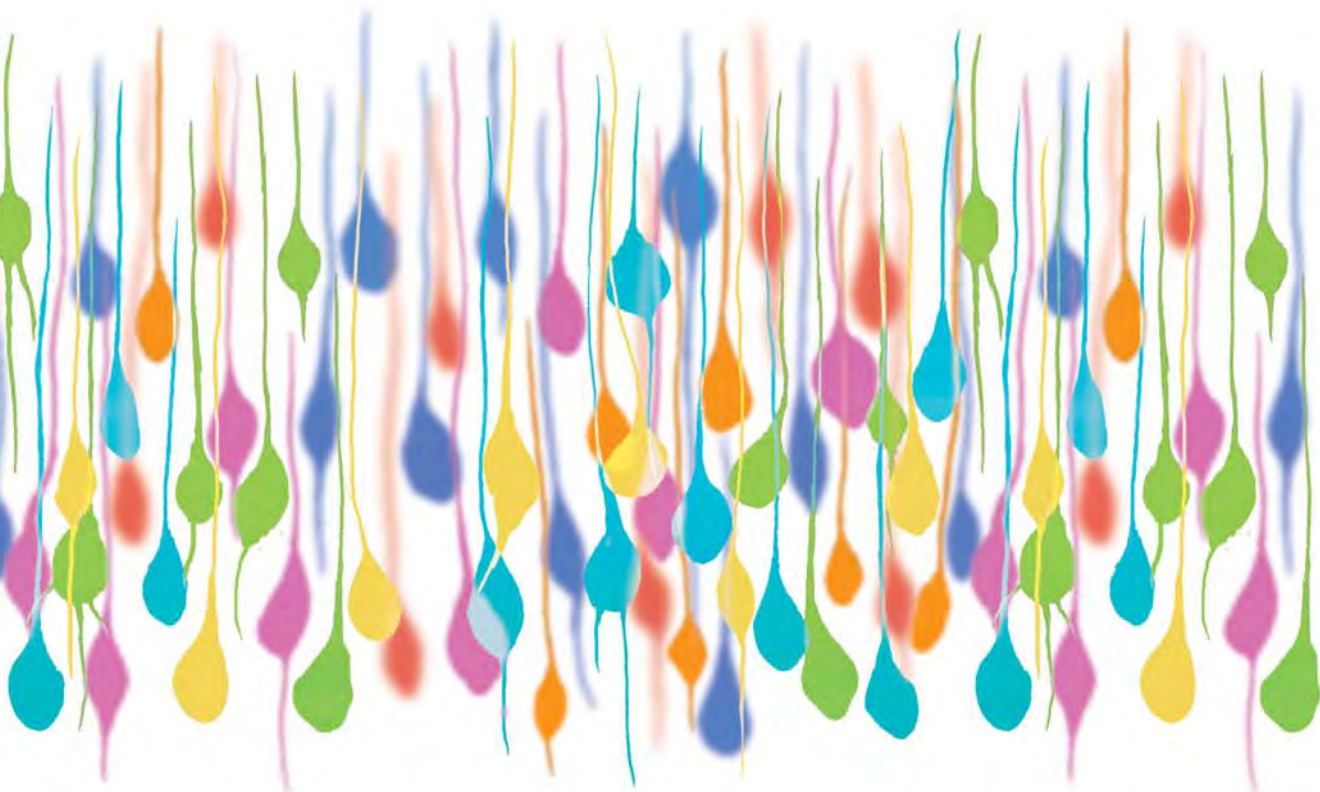
文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究

神経系の動作原理を明らかにするためのシステム分子行動学

領域 ニュース

Systems molecular ethology to
understand the operating principle
of the nervous system

NEWS LETTER Vol.1



CONTENTS

巻頭インタビュー

01 | 領域代表に聞く

飯野 雄一 / 吉田 和史 / 岩田 遼

コラム

03 | ガンマで注意を注ぐ

増田 直紀

研究室紹介

05 | 九州大学大学院理学研究院生物科学部門 動物生理学研究室

谷村 禎一

07 | 独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター

シナプス分子機構研究チーム

吉原 良浩

研究成果

9 | 線虫は二つの行動パターンを併用して目的地に到達する

飯野 雄一 / 吉田 和史

10 | 細胞接着因子KlingleonはNotch情報伝達系依存的に ショウジョウバエの長期記憶形成を制御する

松野 元美 / 齊藤 実

12 | ゼブラフィッシュにおいて、逃避行動に重要な役割をはたす、 特殊なクラスの交差型抑制性介在ニューロン

東島 真一

14 | ショウジョウバエにおいて、聴覚器の振動増幅は シナプス伝達に依存しない

上川内 あづさ

研究技術・手法

16 | ビジュアルサーボ顕微鏡

橋本 浩一

17 | Green Fluorescent Protein (GFP) を用いた カルシウムセンサーG-CaMPによる蛍光カルシウム測定

中井 淳一

19 | 遺伝子発現誘導技術を活用した ショウジョウバエ神経細胞のラベルと解析法

伊藤 啓

22 | DMD顕微鏡

東島 真一

共同研究

23 | 「刈り込み (pruning)」の生理的意義とメカニズムの理解を目指して

林 悠

支援班

25 | イメージング支援

25 | 数理支援

領域の活動

26 | アウトリーチ

27 | 若手研究者海外派遣報告

29 | 班会議・ワークショップ

30 | 参画研究室一覧

31 | 業績一覧



領域代表に聞く

東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻 飯野 雄一／吉田 和史／岩田 遼



岩田 今日は飯野先生に「分子行動学」という研究領域についてお話を伺うことになりました。これは科研費の研究領域なのですね。

飯野 そう。科研費でちょっと前までは特定領域研究と言っていたものが、去年から少し変わって新学術領域研究となりました。ある一定の研究目的を設定して、グループ研究としてそれを達成するための研究領域です。

岩田 そうすると、研究者のグループを作って申請するわけですね。どういうふうに、というか、どういう成り行きでこういう領域ができたのですか。

飯野 私はこの新学術領域が始まる前は、特定領域研究の「脳」と「ゲノム」に公募で入れてもらっていました。正確に言うと「分子脳科学」と「生命システム情報」という領域です。脳の方はもちろん神経系に関する研究者が集まっています、哺乳類の研究者が多いですが、線虫やショウジョウバエなどモデル生物の人たちも結構入っていました。一方、ゲノムの方はいわゆるゲノミクスなど遺伝子や蛋白質を扱う研究と、それに関係してバイオインフォマティクス、つまり情報系の研究者がいて、理論系の研究の話も聞く機会も多かったわけです。「生命システム情報」で設定されていた研究期間の終わりに近づいたころに、領域代表の高木先生から研究会の補助を出しますよというアナウンスがあって、研究会をやってみようと思いました。日頃から線虫の神経回路の働きを理解するにはシステム全体をみるアプロー

チが必要だと思っていたので、まあ線虫に限らないわけですが、実験と理論の融合を目指す研究会をやってみようと思ったわけです。線虫では石原さんが分子遺伝学の方で優れた研究をやられていましたし、新貝さんは前から線虫の神経回路のモデリングや行動の定量化などをやられていたので、こういった方とか、ほかの生物の人や、行動以外の分野で実験と数理解析を協力してやられている方などにお声を掛けして「神経系の動作原理解明のための実験と理論の融合をめざすワークショップ」という一泊二日の研究会をやりました。私としては非常に面白い会でした。実験研究者と理論研究者が協力するにはどうしたらいいか、といった議論が盛り上がったのを覚えています。そのときに、数人の間で新学術領域みたいのを申請してみたらどうだろうという話になって、じゃあ誰が代表になるか、ということ、私はそんなつもりはなかったのですが、お前がやれと言われてしまいました。

吉田 そうしたら、その会に参加した人が今の領域のメンバーなのですか。

飯野 いや、そう簡単な話じゃない。これは以前の特定領域でもだいたい同じですが、申請したら通るという簡単なことではないんです。領域申請となると、どういうことにフォーカスするか、ということを確認してそのために最適なチームを組まないといけません。いろんな方と相談しつつ、実績があって信頼のできる方9名に集まって頂き、計画研究の代表者となっていただくことができました。その9人で目標設定をどうするかを議論して領域計画を練ったうえで申請し、書類審査のあと、さらに詳しい申請書類の提出、面接審査と長い道のりを経て幸いにも申請が採択され、領域が立ち上がりました。領域がスタートした年は計画研究の代表者と分担者だけで研究を始めるわけですが、そのあとすぐに公募研究の募集がなされます。領域の趣旨に合う研究をされている人、あるいはそういう計画を持たれている人に応募してもらって、文部科学省の委員会での審査の上で領域の目的に沿って優れた研究計画を提出された方が選ばれます。今年度は22名の方が選ばれましたが、非常にいい方たちが集まってくれて、目的を共有できそうでしたので、すごく嬉しく思いました。

岩田 どういう特徴を持った領域なのですか。

飯野 その名の通り、動物の行動がどう作りだされるかを、分子レベルから説明しようという領域です。ただ、こう言葉で言うのは簡単だけれど、皆が実験していてわかると思うけれどもこれは実は非常に難しいことです。線虫の変異体でもノックアウトマウスでも同じですが、ある遺伝子をノックアウトして行動がおかしくなった、というときにその遺伝子が大事であることは分かるけれども、じゃあその行動を作り出す神経回路の動作機構がすべてわかるか、という決してそんなことはないでしょ。なので、この研究領域では二つのことに重点を置いています。まず、できるだけ分子と行動の間が近い、比較的簡単な神経系を実験材料として用いること。必然的に無脊椎モデル生物が多くなっていますが、哺乳類など脊椎動物でも対象を絞ればいい系がいろいろあるので、そういった研究者も参加してくださっています。もう一つは、「ものの動き」を見るという方法論を重視します。蛍光蛋白質やFRETなどを使ったイメージングですね。イメージング用のプローブや装置の開発を行う方にも入って頂いています。それでも神経系は複雑ですので、これらに加えて理論研究やモデリングを用いて、限られた実験結果から神経系の動作の原理を抽出するというところを目指したいと思っています。最終的には、この神経でこの蛋白質がこうなったからこのような行動が生起された、という一連の因果関係を明らかにするのが目標ですね。

吉田 領域の活動としてはどんな工夫があるのでしょうか。

飯野 分野融合を目指した領域ですので、できるだけ領域内での研究交流が進むようにしたいと思っています。班会議では、口頭発表だけでなく、学生さんなんかも含めて必ずそれぞれの研究課題からひとつ以上ポスターを出してもらうことにして、夜遅くまで議論できるようなお膳立ても用意しましたし、ホームページ上に領域内掲示板を作ったり、それから支援班というのも作りました。イメージング支援と数理支援です。イメージングは4Dイメージングができる最新鋭の設備を領域共用設備として設置して、領域内の誰でもサンプルを持ちこんで、リアルタイムでの動きを撮影できるような体制をつくるべく準備しています。数理支援は、数理解析が苦手な班員でも、気軽に数理専門の支援班員に相談したり助けてもらったりできるようなシステムです。

岩田 「分子行動学」の領域に何を期待されますか。

飯野 新学術領域研究は、目的を共有する人たちが集まっているという他の研究種目にはない良さがあります。さっきも言いましたが、通常はなかなか出会う機会がない分野の異なる研究者が出会う場となれば良いと思います。実験と理論、遺伝学と

イメージング技術、生物学と工学などの融合によりこれまでには得られなかったレベルで生命現象の理解ができることを期待しています。班員の皆さんには積極的に情報交換や共同研究をやって行ってほしいと思っています。そういうことによって、みんながびっくりするような面白い研究ができればいいですね。

吉田 最後に僕たち若い世代へのメッセージがあればお聞かせください。

飯野 そうですね。どうしても実験をやっていると目先のことだけに捉われてしまいがちですが、夢を持ってほしいと思いますね。僕が大学院生の時は酵母の研究をやっていましたが、これからは脳神経系だ、とかミュータントを取るなら行動のミュータントを取りたいね、とか同僚と話し合ったものです。当時はPCRも発明されていなかった時代で、もちろんゲノム解読もまだですし、GFPもありません。線虫の全神経回路の解明の論文が出たのがそのころです。もっとも、実は私は当時その論文を知らなかったんですが…。その後、脳研究に火がついて、学習とか軸索誘導とか、それまでどこから手をつけていいかわからなかったような問題が次々と解明されてきました。だから、どう手をつけていいかわからない、というぐらいのテーマがライフワークとしてはちょうどいいんじゃないかな。もちろん、うちのラボや分子行動学の領域でやっているような研究には面白いトピックがいっぱいありますので、それに携わる中から数十年先のヒントをつかんでくれれば良いと思います。それから、チャレンジ精神を持ってほしいと思います。最近の学生さんは、他の人がうまくいっているような実験しかやろうとしない安全志向の人が多いので内心残念に思うことが多いです。新たな実験装置を作ったり、よその研究室に新しい技術を習いに行ったりということを自分から進んで計画するようであって欲しいですね。そういうことをして苦労しないとやっぱり画期的な研究はなかなかできないのではないのでしょうか。それと、いろんな経験をして欲しいと思います。海外留学もぜひしたらいいと思います。そういえば、この領域では若手支援旅費というのを出しています。海外の学会に参加するといったことを支援していますが、留学先を探すために海外のラボめぐりをするといい目的にも使えることにしています。班会議にもできるだけ若い人に多く参加してもらおうように言っています。ぜひ未来のサイエンスをしょって立つ人がたくさん出てくれることを願っています。

岩田、吉田 きょうはどうも有難うございました。



ガンマで注意を注ぐ

東京大学大学院 情報理工学系研究科 増田 直紀

30-100Hz程度の周波数領域に対応するガンマ振動が、脳のLFPなどにしばしば見られ、例えば情報統合、選択的注意、睡眠などに役割を果たすことが示唆されている。本稿では、ガンマ振動の選択的注意における役割の理論的研究について、ざっくばらんに紹介する。

はじめに

私の研究計画班は、本領域に9つある計画班の中で、唯一、実験やもの作りを行わない理論班である。現在の公募班の中にも理論班はないと思う。

私は、博士課程の頃から、神経ネットワークの同期やSTDPの理論的な研究をしていた。ところが、たまたま(?)、実験で直接実証しにくい内容だった。そして、理研BSIで2年半ポスドクをしたときに、実験家の方々と知り合う機会を得て、ネコの電気生理実験(in vivoである!)までさせて頂いた。また、永雄先生の小脳の運動学習の実験に、私のボスの甘利先生が着目した。この現象を甘利先生と数理モデルで解析し、実験家にとっても面白かりょう仕事にまとまった。こういったことを通じて、実験で検証可能な理論にシフトしていこうと思った。

本理論班のミッションは、他の実験班の実験を数理モデル化することである。

飯野班と行っている研究について領域会議で報告したが、これについては他の機会に紹介させて頂くかもしれない。

前置きが長くなった。本稿では、少し以前にとりあえず完結した、選択的注意の数理モデルの研究について簡単に紹介する。たまたま、元となる実験(に近い研究)を行っている研究室は身近にない。この研究の立ち位置は、理論的な興味

と実験をモデル化する興味の間くらい、というのが正直なところである。

研究その1

脳内の神経活動には多くのリズムがある。例えば、海馬のシータ振動(10Hz程度)は有名である。ここでは、注意を要するタスクを遂行している動物のLFPなどによく見られる「ガンマ振動」(30-100Hz程度)を考える。選択的注意におけるガンマ振動の重要性については、意見が分かれてはいる。本稿では、ガンマ振動に意味があると思うことにする。

まず、ガンマ振動がどのようにタスクのパフォーマンスを高めるか、について理論研究を行った^[1]。用いたニューロンの数理モデルは、Hodgkin-Huxleyニューロンよりもだいぶ簡単な「積分発火型ニューロン」である。膜電位に対応する1変数だけをもち、細胞体のみの1コンパートメントである。

次に、ガンマ振動である。(抑制的な)インターニューロンのネットワークがガンマ振動を生成、制御することは、ここ15年程度の実験と理論によってかなりの程度確かめられている。そこで、ガンマ振動は直接モデル化せずに、外から正弦波として与えることにした。これを選択的注意そのものと見なす。この正弦波が選択的注意からどのように作られるか、はよくわからない。注意の起源は、意識の問題とも関連する難問に思われる。それは、ガンマ振動と関係しない選択的注意の研究においても同様である。

「2つの刺激を分別する課題」について考えた。その中でも最も単純な場合として、2つの刺激は、時間的に一定の、異なる大きさの刺激として与えた。どの

ように脳が情報をコードするかについては議論があるが、ここでは、単純に発火率が用いられるとする。すると、発火率を見て、2つのうちどちらの大きさの刺激が与えられているかを分別する問題に帰着する。本当はいくつかの要因があるが、ここでは、発火率の不規則性(出力のノイズとと思ってよい)が減少すると分別能が上がる。

我々は、ガンマ振動をニューロン集団に与えると発火率の不規則性が実際に減少することを、数値計算および統計モデルの理論解析によって示した。メカニズムの詳細を語ることはこの記事の範囲を超える。

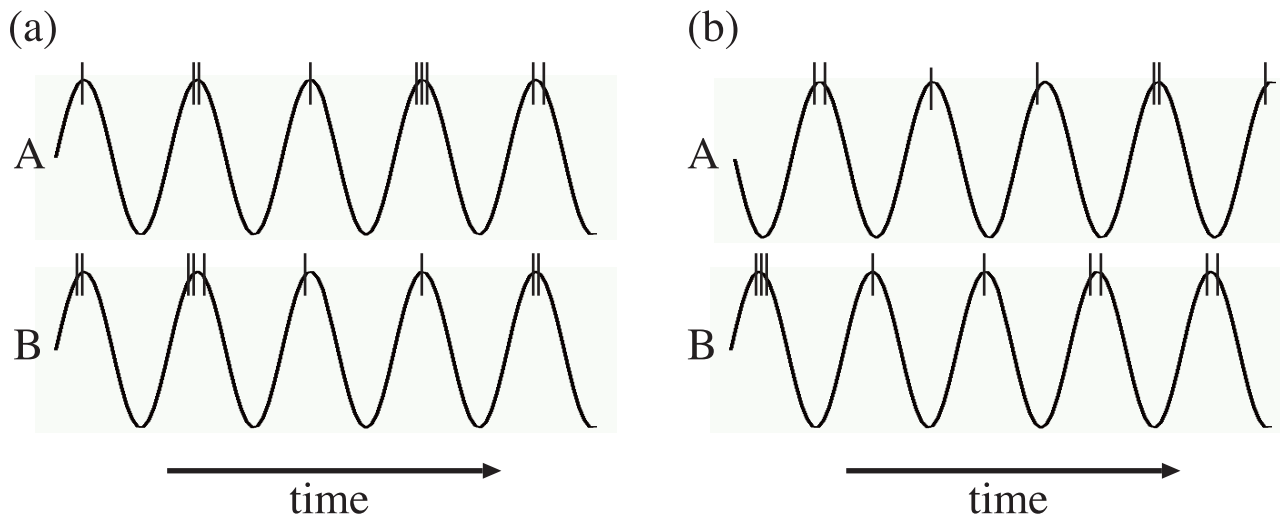
研究その2

実は、このメカニズムは、強いガンマ振動を必要とし、刺激が3個以上ある場合に対応しにくく、時間的に一定な刺激を用いている、といった制限がある。

ある短い総説^[2]で、直観的には自然に思われるがさほど理解されていなかったアイデアが提出された。同じ位相のガンマ振動を受けとっている2つのニューロン集団AとBは通信しやすく(図a)、異なる位相のガンマ振動を受けとっているAとBは通信できにくい(図b)、というアイデアである。

図aでは、Aが発火する時刻にBは発火しやすい。図bでは、集団A(のニューロン)が発火する時刻にBは発火しにくい。AとBの間にシナプス結合があってもである。

このアイデアを実装する形で、次の研究を行った^[3]。3つのニューロン集団を準備し、A1,A2,Bと置く。A1からB、およびA2からBへ、興奮的なシナプス結合があるとすると。A1とA2は、ガンマ振動を受



ガンマ振動に基づくニューロン集団の通信。
 (a)2つのニューロン集団AとBは、同じ位相のガンマ振動を受け、通信しやすい。
 (b)AとBは異なる位相のガンマ振動を受け、通信しにくい。

けとり、その他に、時間的に変化する刺激1と2もそれぞれ受けとるとする。下流にあるBはガンマ振動のみを受けとるとする。すると、A1とBのガンマ振動の位相が合致するときに、Bの発火率は刺激1を表すことがわかった。このとき、刺激2はBにおいて無視される。逆の場合も同様である。

ここで、ガンマ振動はさほど強くなくてもよい。また、刺激が3つ以上のときにも、この仕組みは働く。

おわりに

この研究は、選択的注意、特に視覚野(V4など)のそれにヒントを得ているが、特定の視覚的なタスクをモデル化したものではない。使われているタスクはとても単純である。最初に述べた「実験に近い数理モデル」を目指したい立場から見ると、まだ理論的興味の方が強めな研究かもしれない。だから、理論誌に出版された。ガンマ振動に拘泥しなくてもよいのだが、選択的注意について、もう少し実験寄りの理論研究を行いたいものである。

参考文献

- [1] N. Masuda, B. Doiron. Gamma oscillations of spiking neural populations enhance signal discrimination. *PLoS Comput. Biol.*, 3, e236 (2007).
- [2] P. Fries. A mechanism for cognitive dynamics: neuronal communication through neuronal coherence. *Trends Cog. Sci.*, 9, 474-480 (2005).
- [3] N. Masuda. Selective population rate coding: a possible computational role of gamma oscillations in selective attention. *Neural Computation*, 21, 3335-3362 (2009).



九州大学大学院理学研究院生物科学部門 動物生理学研究室 ショウジョウバエの食行動における 意思決定の行動生理学的解析

九州大学大学院 理学研究院 谷村 禎一

タイトルを読んで、ハエが意思決定などするものかと思われる方や、ハエにそもそも意思なるものがあるのかと疑問に思われる方がおられると思う。もともとである。たしかに、ハエの集団が相談して物事の方向性を決めることは難しいかもしれない。しかし、私は、ショウジョウバエが何を食べるかにおいて「意思決定」を行っているのではないかと最近考えるようになってきた。

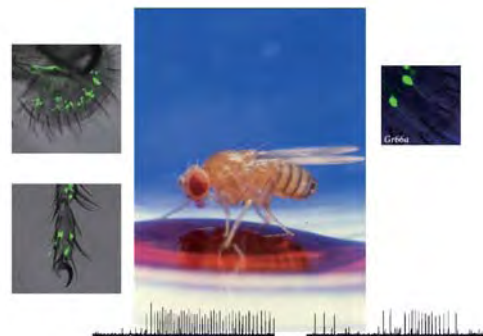
ショウジョウバエの研究がヒトを含めた他の生物の研究に役立つことが認められるようになったのは2000年にショウジョウバエの全ゲノムが決定された以後ではないだろうか。それ以前もそのような主張は可能であったが、説得力が弱かった。例えば、ショウジョウバエの時計突然変異体*period(per)*は1971年に分離されたが、1997年にヒトのホモログである*per*遺伝子が発見されるまでは、*per*遺伝子は昆虫に特有な遺伝子ではないかという意見もあり、時計突然変異体の研究は専門家の間でさえ、それほど高く評価されていたわけではなかった。昔、私の論文に対して「ショウジョウバエの行動突然変異体の研究はおもしろい

が他の分野へのインパクトがない」という査読コメントをもらったことを覚えている。ショウジョウバエの学習突然変異体に関する研究についても同様な見方がされていたと思う。しかし最近では、ショウジョウバエを用いた痛覚、睡眠、攻撃行動、加齢、肥満の研究が脚光を浴びており、ショウジョウバエをモデルとして研究できないテーマはないという勢いである。このような状況において「食行動における意思決定」というテーマも受け入れられると期待している。

ただ残念なことに、このような新しい潮流のほとんどは欧米で生まれており、学問領域の垣根を取り払ったなかでの彼らの自由な思考(思いつき)と新しい実験技術の開発精神から私たちはもっと学ぶことができるだろう。一方で、ショウジョウバエの脳と行動の研究はヒトの理解にも役立つという認識は科学者の間だけのことであり、「ハエにも脳があるんですか!」と驚かれるように一般市民にはほとんど知られていない。私たち専門家のさらなるアウトリーチ活動が必要ではないだろうか。

味覚について 新しくわかったこと

研究を始めるときには研究材料と研究テーマを選ぶ。私の場合は「ショウジョウバエの味覚に関連する行動」であった。先行研究がほとんどないテーマだった。研究を始めた頃、ハエにとっての「基本味」は、糖、塩、水であると総説に書いてあり、しばらくはそれを信じて



物の唇弁と脚の先端のフ節の感覚子で味を感じる。味覚受容体 遺伝子のプロモーターを利用して味細胞をGFPでラベルした。

いた。しかし、行動実験から苦味物質の味もわかるのではないかと考え始め、電気生理でそれまでは調べられてこなかった感覚子から記録し、苦味物質に対する神経応答を記録することができた。昆虫の味細胞は一次感覚細胞であり、嗅細胞と同様に感覚細胞が軸索を中枢に伸ばしている。ショウジョウバエの嗅覚受容体を味細胞で強制的に発現してみたところ、味細胞が匂いに応答することがわかった。ショウジョウバエの嗅覚受容は、匂い物質の結合によって開閉するチャネル型受容体であることが最近わかってきた。そのようなチャネル複合体が味細胞でもそのまま機能できるのである。この研究の過程で、味細胞の匂い物質に対する応答を調べるため、タングステン電極を用いた電気生理学的記録法を用いた。この手法を用いることにより、これまで調べることができなかった非水溶性の物質に対する味応答の記録が可能になったことにより、雄の求愛行動を抑制する炭水素化合物が苦味受容細胞を刺激することを明



フランスからの共同研究者を迎えて、ラボでのチーズ&ワインの味覚学習会

らかにした。このような研究から、ショウジョウバエの味覚世界がこれまで考えていたよりはるかに複雑なものであることがわかってきた。

このような味細胞レベルの知見を基礎として、私たちの研究室の現在の研究テーマは「ショウジョウバエの摂食行動における意志決定」にシフトしてきた。空腹のハエの足(フ節)を糖溶液で刺激すると吻を伸ばす吻伸展反射は反射の例として教科書にも取り上げられている。吻伸展反射がおこるかどうかはハエの空腹度に依存しており満腹ではおこらない。摂食行動が反射経路にだけ依存するのであれば、そこには意識的な決定は何も要らない。しかし、最近の私たちの研究から、食べるかどうかを決めるために脳内で意志決定が行われていることがわかってきた。3つの話題を紹介したい。

よい匂いは 食欲を増進させる

自然界では様々な感覚情報が統合された結果、生物の行動が発現する。私たちは匂いと味の感覚情報がどのように相互作用するかを調べている。その結果、しょう油、リンゴ酢などの匂いによって摂食が増進することがわかった。例えば、水に対する吻伸展反射は、絶水状態でないとおこらないが、匂い存在下では

のどが渴いていなくてもおこる。しかし、どの匂いでもよいわけではなく、特定の匂いの経路が興奮することが必要である。脳内のある介在ニューロンを遺伝学的なトリックを利用して人工的に興奮させることによって、両者の感覚情報の統合がどこで行われているのかを調べている。これによって脳内の情報統合の神経機構が明らかになると期待している。

ショウジョウバエは食物の 栄養価が判断できる

生物は自己の維持、成長、増殖のために外界から栄養を取り込む必要がある。生物が栄養となる食物を識別する上で味覚感覚は重要であるが、生物は食物の栄養価をどのように感知しているのだろうか。昆虫は自然界でエネルギー源となる糖を見つけて食べるのが生きるために必須である。そのために高感度の糖受容味細胞を備えているが、栄養価を甘さだけで判断できない場合がある。例えば、アラビノースはグルコースと同じほどハエにとって甘い、アラビノースはまったくエネルギー源にはならない。一方、ほとんど甘くないのにエネルギーとなる糖類がある。この2種類の糖を匂いと連合させて学習実験を行ったところ、ショウジョウバエは栄養価を匂いと関連づけて学習できることがわかってきました。ハエは人工甘味料にだまされないわけです。

ショウジョウバエは 必須アミノ酸を摂取する

ショウジョウバエは発酵した食物を好むが、発酵に関わる酵母はショウジョウバエにとってはタンパク源となっており、酵母に含まれるアミノ酸は雌が産卵するために不可欠な栄養素です。糖だけを含む培地で育てると雌の産卵数が激減します。ショウジョウバエの唇弁、フ節に存在する化学感覚子には糖、



吻を伸展させて食事時のショウジョウバエ。

塩、水、苦味物質、性フェロモンに応答する味細胞があることが知られていますが、アミノ酸の摂取はショウジョウバエにとって重要であるにもかかわらず、その味覚受容については何もわかっていませんでした。そこで私たちはショウジョウバエがアミノ酸を感知しているかを調べるために、食用色素を利用したtwo-choice preference test、CAFE assay、吻伸展反射、唇弁感覚子からの電気生理学的記録によって研究を行った。その結果、外部に存在する味覚子はアミノ酸に応答しないにもかかわらず、ショウジョウバエはアミノ酸を水や低濃度の糖よりも好んで摂取することがわかり、ショウジョウバエがアミノ酸を感知することができることが明らかとなりました。成虫の雌に糖だけを与え続けると、糖に酵母抽出物を加えた場合と比べて、アミノ酸の摂取量が増加した。このことはショウジョウバエが体内のアミノ酸飢餓状態をモニターすることができること、そしてアミノ酸飢餓状態になるとアミノ酸摂取量を増加させるメカニズムを有していることを示唆している。

このように、食行動についてもショウジョウバエは予想以上に「賢い」ことがわかってきた。意思決定とは何が重要かを決めるプロセスである。ショウジョウバエは、体内の化学的環境をモニターして何を食べるのが良いかを決める能力があると思われる。その神経機構をこれから探って行きたい。



赤青の食用色素を利用した2者選択嗜好テスト。それぞれに異なった糖を入れ摂食後、腹部の着色からハエの好みを知ることができる。

研究室紹介

独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター シナプス分子機構研究チーム

独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター シナプス分子機構研究チーム 吉原 良浩

Where?

埼玉県和光市。一昨年開通した東京メトロ副都心線のおかげで、非常に交通の利便がよくなった東京のベッドタウン。池袋まで13分、新宿まで21分、渋谷まで26分、乗り換えなしでヒョイと行ける。なんと2012年には、和光市から横浜の中華街まで直通電車が走るといふからさらに驚き!

さて和光市の名物と言えば、ホンダ自動車のR&D (ASIMOもここで造られた!)、アメリカ所有の大きな原っぱ(広大な敷地に2本のアンテナだけ、なんでやねん?)、司法研修所(裁判官・弁護士のお卵がいっぱい)、そして忘れてはならないのが独立行政法人理化学研究所(通称、理研)。和光市駅から歩いて15分、周囲に飲み屋や遊び場はまったくなく、いやがおうにも研究に没頭せざるを得ない絶好の環境に理研のキャンパスがある。

When?

1997年、理化学研究所・脳科学総合研究センター(RIKEN Brain Science Institute: BSI)が伊藤正男先生を初代センター長として設立され、日本にお

ける脳科学研究の中核拠点として発展してきた。2009年度からは利根川進先生を新センター長として迎え、「心と知性への挑戦コア」、「回路機能メカニズムコア」、「疾患メカニズムのコア」、「先端基盤技術研究コア」という4つのコア領域から成る新体制となった。現在、約50の研究チームが「脳機能の解明」という共通目標へ向けて、多彩な視点から、学際的かつ融合的に研究を行っている。わがシナプス分子機構研究チーム(Laboratory for Neurobiology of Synapse)は1998年(寅年)に誕生し、今年でちょうど干支が一巡、ようやく研究室として脂がのりきった時期に突入しようとしている。

Who?

シナプス分子機構研究チームは上記の「回路機能メカニズムコア」に属し、チームリーダー1名、副チームリーダー1名、研究員3名、リサーチアソシエイト1名、テクニカルスタッフ3名、大学院生2名(長岡技術科学大学、東京大学)、秘書1名、パートスタッフ3名、マウス約2000匹、ゼブラフィッシュ約3000匹から構成されている(図2)。当研究チームでは「遺伝子からニューロンへ、神経回路

へ、さらには行動へ」というボトムアップ戦略によって、嗅覚神経系の発達と機能構築の分子・細胞・回路メカニズムを解明することを目標とし、娯楽の少ない和光市で毎日夜遅くまで研究に取り組んでいる。

他のグループとの共同研究も盛んである。理研内においては、岡本仁先生(BSI:本研究領域班員)からゼブラフィッシュに関するありとあらゆる知識・ツールさらには飼育スペースを提供いただき、宮脇敦史先生(BSI:本研究領域評価委員)から新しい蛍光蛋白質を出来たてのほよほよの状態で作らせていただいている。また近くの東京大学には世界に名だたる嗅覚・味覚研究者が揃っており、森憲作先生(医学部・本研究領域評価委員)、坂野仁先生(理学部)、阿部啓子先生(農学部)、東原和成先生(農学部)の研究室と合同ミーティングや共同研究を活発に行っている。

What?

私たちの研究目標は『嗅覚入力から行動出力へと至る神経回路メカニズムの解明』である。嗅覚神経系は外界の匂い分子を受容し、その情報を脳へと伝達することによって、匂いイメージの形

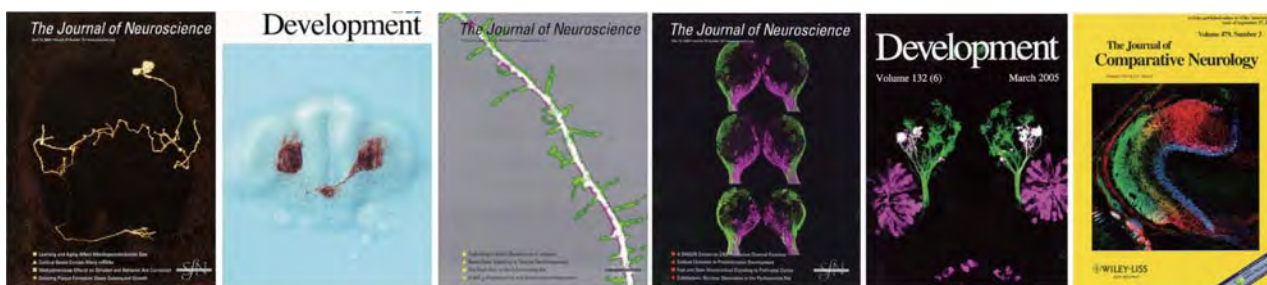


図1 Gallery Synapse: 最近5年間にジャーナルの表紙を飾った研究成果。



図2 2009年のお花見。右端が著者。
ゼブラフィッシュとマウスはラボでお留守番。

成による感覚認識とともに、内分泌・情緒・行動などの総合的变化を引き起こす重要な神経システムである。1991年のBuckとAxelによる匂い分子受容体遺伝子群の発見を契機として、この20年間に嗅覚研究は飛躍的進歩を遂げた。特に、嗅細胞における「1受容体-1細胞ルール」の発見とそのメカニズムの解明、同じ受容体遺伝子を発現する嗅細胞群の「特定糸球への軸索集束」を基盤とする嗅球における『匂い地図』の存在などが明らかとなった。しかしながら、嗅球から高次嗅覚中枢への軸索投射パターン、高次嗅覚中枢における匂い情報コーディング様式、さらには様々な嗅覚行動を誘発する匂い分子の実体とその受容体、それら行動を司る神経回路機構など、未だ解明されていない多くの大切な疑問が存在している。今、世界の嗅覚研究はどんどん脳の奥へと向かっている。

How? その1「百聞は一見にしかず」

どれだけたくさん話を聞いても、たくさん本を読んでも、自分たちの目で見ないと信じられない、真実は理解できない。だから自分たちで実験して、見て、確かめる。

特に神経回路。鼻の中の嗅細胞で受容されたある匂いの情報が、嗅球のど

こへ送られているのだろうか？さらに脳の奥深くの、どのニューロンへと繋がっているのだろうか？私たちは遺伝子工学的手法を駆使した神経解剖学的解析を一番の得意技としており、トランスジェニックゼブラフィッシュ(あるいはマウス)を作製して特定の嗅覚神経回路を選択的に可視化することができる。例えば、図1(左端)はゼブラフィッシュの嗅球から高次嗅覚中枢へと投射するニューロン群のうち、たった1つのニューロンだけをin vivoで可視化した顕微鏡画像である。細胞体から伸び出す神経突起が脳のどこを通過して、どこで枝分かれして、どこにたどり着くのか、一目瞭然!!

私たちは顕微鏡を使ってイメージを撮り込む際に、その1枚1枚がジャーナルの表紙を飾るような最高の画像となることを目指している。ちなみに図1はその成功例である(もちろん失敗も多いですが...).

How? その2「温故知新」

20年前、設立してまもない大阪バイオサイエンス研究所のポストドクとなった私は、毎日、一番に図書室に足を運び、まっさらな新着雑誌のページを繰って読むことを趣味としていた。それが今や、関連分野のほとんどすべての雑誌をパソコン上のPDFファイルで読める時代となった。運動不足で身体がメタボになるとともに、莫大な情報量とすさまじいスピードで頭もメタボになりそうである。つい、最新論文のタイトルだけを見て満足してしまい、少し違った分野の論文や、少し古い論文をおろそかにしてしまう傾向にある。

そこで私たちの研究室では、週に一度の最新論文紹介(いわゆるJournal Club)だけでなく、古くても自分たちの研究に関連する論文を意識的に読む勉強会を催している。時には1960年代の魚の行動実験の論文や、1980年代の

フェロモン分子精製の論文に度肝を抜かれることがある。まさしく温故知新☆

How? その3「Serendipityを見落とさない」

Serendipity: 思いがけなくいいものを偶然に発見すること。おとぎ話「The Three Princes of Serendip」の主人公たちは探してもいない珍宝を偶然に発見した。イギリスの小説家Horace Walpoleがこの題名から生み出した造語。科学の発展には欠かせない言葉である。Serendipityはただの「偶然」や「幸運」ではなく、それを見つける能力であると私は理解している。仮説を立てて実験をしたが予想に反した結果が出た時に、それをボンヤリと見逃すか、意図的に捨ててしまうか、あるいは見落とさずにSerendipityの可能性に繋げることができるか、そこに科学者としての力量が問われる。同じ顕微鏡画像、同じ電気泳動写真、同じ魚の行動であっても、見る人によって見えるものが違う。

“Discovery is seeing what everyone else has seen and thinking what no one else has thought.” (Albert Szent-Gyorgi, Nobel Laureate in Physiology and Medicine 1937 for his discovery of vitamin C and the catalysis of fumaric acid)

本研究領域に関連した最近の発表論文

- [1] Koide et al. (2009) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106: 9884-9889
- [2] Miyasaka et al. (2009) J. Neurosci. 29: 4756-4767
- [3] Kaneko-Goto et al. (2008) Neuron 57: 834-846
- [4] Sato et al. (2007) J. Neurosci. 27: 1606-1615
- [5] Miyasaka et al. (2007) Development 134: 2459-2468
- [6] Sato et al. (2005) J. Neurosci. 25: 4889-4897
- [7] Miyasaka et al. (2005) Development 132: 1283-1293

線虫は二つの行動パターンを併用して目的地に到達する

東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻 飯野 雄一／吉田 和史

線虫C.エレガンスにはたった300個しか神経細胞がありませんが、そのシンプルな神経回路を駆使して餌の存在を示す味や匂いを感じ、これらに近寄っていきます。この行動は化学走性と呼ばれます。この行動を観察することにより、感覚神経で感知した化学物質の濃度の情報がどう神経回路で処理されて適切な行動を引き起こすかを解析することができます。私たちは、線虫を追尾して行動を測定する装置、ワームトラッカー(図1A)を用いて、線虫が化学走性の際にどのように化学物質に近寄っていくかを調べました。線虫は、通常体を蛇行させて前進しますが、時折バックし、次に前進するとき大きく方向を変えることがあります。これをシャープパターンまたはピルエットと呼びます。これまでに、海外の研究者がピルエット機構という行動機構をみつけていました。図1と同様の装置を使い、塩(塩化ナトリウム、酢酸ナトリウムなど)への化学走性の行動を定量化したところ、線虫が

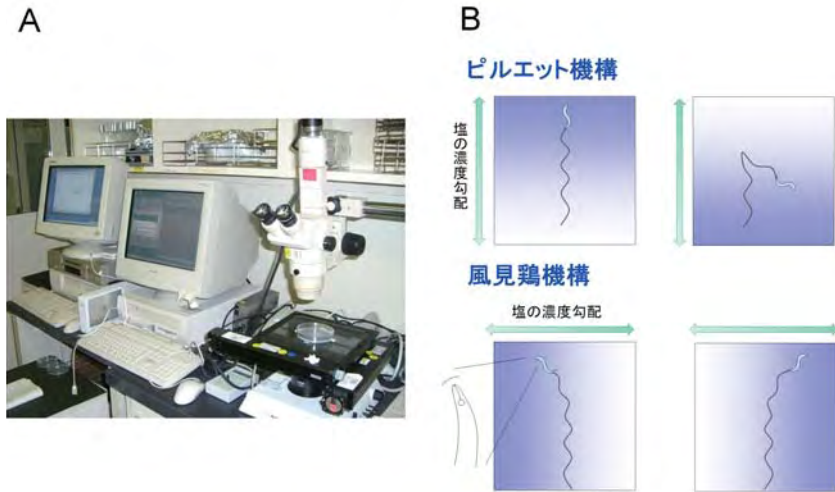


図1
A: ワームトラッカー。寒天プレート上に塩の濃度勾配を作り、線虫を置いて化学走性行動を行わせる。プレートを電動ステージの上に置きカメラで線虫の姿を捉える。コンピュータで画像を処理して重心の位置を算出し記録する。画面から線虫が外れないように電動ステージを自動制御している。
B: ピルエット機構と風見鶏機構の模式図。線虫は塩の濃度勾配の方向に応じて異なる行動を起こす。線虫の頭部の拡大図には感覚神経の位置を示す。

感じている塩の濃度が低下したときに、ピルエットの起こる頻度が高くなることわかったのです。ピルエット後に進む方向はランダムに近いのですが、塩の濃度が低下するときにピルエットが起

こって前進を妨げることにより、結果的に線虫は濃度の高い方に集まることになる、というのがこの機構です(図1B)。さて、私たちは、この機構だけでは不十分なのではないかと考え、改めて塩

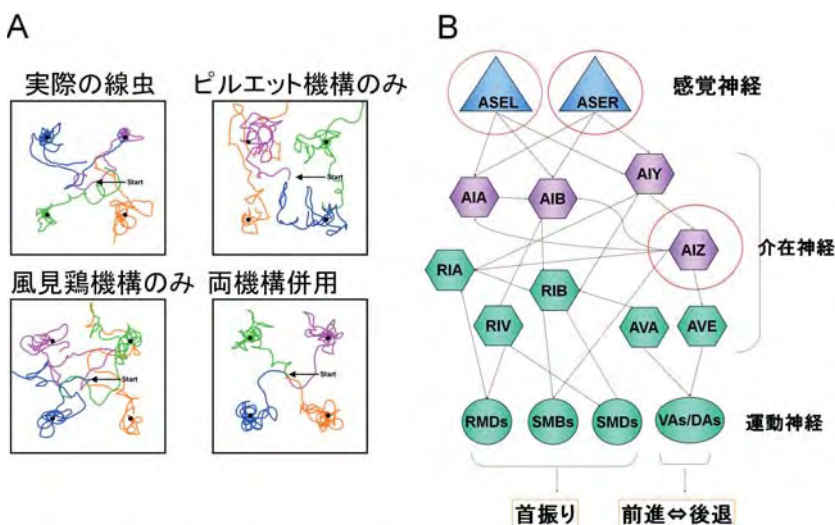


図2
A: コンピュータシミュレーションの結果。それぞれ4匹の線虫の軌跡の例を色分けして示す。4点にNaClを置いている。
B: 線虫の感覚神経付近の神経回路。NaClを受容する感覚神経ASE (ASERとASEL) および介在神経AIZがNaClへの化学走性の際のピルエット機構と風見鶏機構に必須である。

への化学走性の行動についてワームトラッカーを用いてデータをとりなおし、その数値データを解析しました。特に、線虫が前進しているときの行動に注目しました。前進時も線虫は決して直進するわけではなく、右や左へゆっくり曲がりながら進みます。一見不規則な進路なのですが、数値データを平均していくと明らかなバイアスが見つかりました。すなわち、線虫の進行方向に垂直な方向に塩の濃度勾配があるときに、線虫は濃度の濃い方に曲がって進む傾向があることがわかりました。これも線虫が塩の濃度の高い方に移動する助けとなります。これを風見鶏機構と呼びます(図1B)。では、ピルエット機構と風見鶏機構は両方とも化学走性に必

要なのでしょうか。得られた定量的な関係をもとに、コンピュータシミュレーションを行いました。その結果、一方の機構だけを再現したモデル線虫は化学走性のパフォーマンスが実際の線虫より悪く、両機構を併せ持たせると、はじめて実際の線虫に匹敵するパフォーマンスを示すことがわかりました(図2A)。つまり、進行方向に濃度勾配があるときにはピルエットにより急激な方向転換をし、進行方向と垂直方向に濃度勾配があるときにはゆっくりカーブすることにより化学物質に近寄っていくことがわかりました。

線虫は頭の先の感覚器で化学物質を感じています。つまり一点で感知するわけですが、その一点での情報がどう分

析されてピルエット機構あるいは風見鶏機構の行動につながるのでしょうか。それを明らかにする第一歩として、感覚神経およびそれと接続する神経回路の神経をレーザーで破壊してその効果をワームトラッカーで調べました。その結果、ASE感覚神経とAIZ介在神経が、それぞれピルエット機構と風見鶏機構の双方に必要であることがわかりました(図2B)。この神経回路上での情報処理機構の解明が今後の課題です。

参考文献

- [1] "Parallel Use of Two Behavioral Mechanisms for Chemotaxis in *Caenorhabditis elegans*"
Journal of Neuroscience 29(17), 5370-5380 (2009)

研究成果

細胞接着因子KlingonはNotch情報伝達系依存的にショウジョウバエの長期記憶形成を制御する

東京都神経科学総合研究所 神経機能分子治療研究部門 松野 元美／齊藤 実

長期記憶形成は新規タンパク合成とNotch受容体活性を必要とする。近年、Notch情報伝達系とアルツハイマー病による記憶障害の関連が注目されているが、Notchと記憶を結びつける下流因子についてはほとんど分っていない。私達はショウジョウバエのイムノグロブリンスーパーファミリーに属する細胞接着因子Klingonが成体の長期記憶形成時に必要であること、KlingonはNotchと記憶を結びつける下流因子として働くことを示した。

1. 概要

動物が過去の経験をどのようにして記憶していくのか、について理解するこ

とは神経科学における中心課題のひとつである。経験直後の記憶は不安定であり、外部からの麻酔などのショックによりすぐに消えてしまうが、やがてショックに耐えうる安定した(統合された)記憶へと質的に変化する。私達はこの安定した(統合された)記憶形成の分子機構について知る為、ショウジョウバエを用いた学習行動実験を行っている。ショウジョウバエは扱いが容易であり、また遺伝学的手法が発達していて変異体の種類が多く、バイオリソースが良く整備されているという利点を持つ。また現在までに多くの変異体の解析から、学習による記憶情報の獲得から長期記憶形成に至る各過程が遺伝学的に分類されて来ており、この分子機構の多くは哺乳

類まで進化的に保存されていることが分っている。ショウジョウバエでは嗅覚連合学習が最も良く変異体スクリーニングや行動解析に用いられている。嗅覚連合学習では2種類の匂いを条件刺激(CS)として、電気ショックを無条件刺激(US)として用いる。2種類の匂いのうち、CS+となる匂いは電気ショックと組み合わせると同時に1分間提示し、CS-となる匂いは匂いのみをやはり1分間提示する。この条件づけによりショウジョウバエは提示された匂いのうち、どちらが危険な匂い(CS+)かを学習する。

現在までに、この嗅覚連合学習を複数回行うことで、安定した(統合された)記憶が作られることが分かっている。15分の休みをはさんだ学習の繰り返し



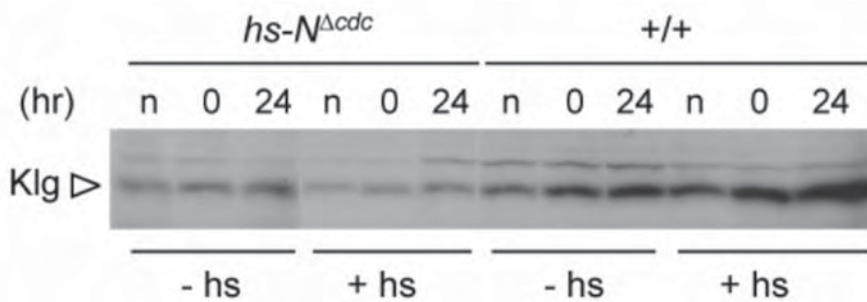


図1
野生型+/+で見られる長期記憶学習後のKlgタンパクの増加は温度感受性Notch不活性型変異体、*hs-N^{Δcdc}*を誘導すると抑制される。
n; トレーニング前
0; トレーニング直後
24; トレーニング後24時間

(spaced training)は転写や翻訳に依存した、長期記憶(LTM)を作る。一方、休みなしで学習を繰り返した場合(massed training)には転写や翻訳に依存しない麻酔耐性記憶(ARM)が作られる。これら二つの記憶は遺伝学的に独立したもので、例えばCREBやAdf-1, Notchを介した転写活性が落ちると、ARMは正常だが、LTM特異的に異常が見られることが知られている^{[1], [2]}。

このうち膜受容体であるNotchは活性を上昇させるとLTMの促進が起こることが近年の研究により分かっている。Notchの細胞内ドメインの切断はNotch情報伝達系の重要なステップであり、Presenilin依存的な γ -secretaseによって行われる。またPresenilin依存的な γ -secretaseはamyloid precursor protein (APP)も切断し、beta-amyloid(Abeta)と転写活性化能をもつAPP細胞内ドメイン(AID)を生み出す。興味深いことに、家族性アルツハイマー病ではPresenilinに変異が見られ、それがPresenilin依存的な γ -secretaseの活性異常を引き起こすと考えられている。これにより、Abetaが老人斑を生じさせる一方で、Notchの活性化が抑制されてしまう^{[3], [4]}。これらのことから記憶形成におけるNotchの機能及びその下流因

子、上流因子について理解することは、アルツハイマー病における記憶障害の理解につながるかと期待される。しかし正常個体におけるNotch情報伝達系による記憶制御の実体は殆ど明らかになっていなかった。

2. 細胞接着因子Klingleonは長期記憶形成時に必要である

私達はショウジョウバエLTM変異体の大規模スクリーニングによって単離されたイムグロブリンスーパーファミリーの細胞接着因子Klingleon (Klg)がNotch情報伝達経路の下流因子であることを見いだした^{[5], [6]}。klgの変異体は正常な学習及びARMを持つ一方で、LTM形成に特異的に障害を示す。また、タンパク合成はLTM形成において重要なステップであるが、私達はKlgタンパクレベルがLTM学習後に上昇すること、成体でklgをLTM学習直前にノックダウンするとLTMが形成されないことを見いだした。このことから成体でのLTM形成にklg遺伝子が必要とされることが示唆された。

3. KlingleonはNotch依存的な長期記憶形成に必要である

興味深いことに、私達は学習後のKlgの増加にはNotchが活性化されることが必要であることを見いだした(図1)。

Notchの転写活性はLTMに必要であり、この活性を上昇させるとLTMの促進が起こるが^[7]、私達はこの時にKlgの量は増加していること、このLTM促進がklg変異により抑制されることを見出し、Notch依存的なLTM形成にklgが必要であることを示した。以上の結果から、Notch依存性のKlgレベルの制御がLTMに必須であることが示唆される(図2)。NotchがLTM形成に必要ということはPresenilin依存的な γ -secretase活性がLTM形成に必要ということを意味する。興味深いことにPresenilin遺伝子は上流にCREBが結合するCRE配列を持ち、CREBによって転写制御されている^[8]。従って、LTM学習により活性化されたCREBがPresenilinの発現を誘導し、その結果としてNotch、それからKlgの活性を上げてLTMを形成するのかもしれない(図2)。

細胞接着因子は記憶の統合過程において神経細胞やシナプスの構造的、機能的な可塑性に重要な働きを担ってい

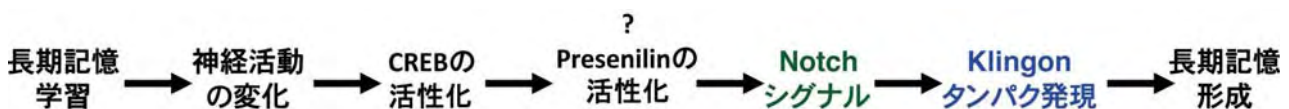


図2 現在のモデル
長期記憶学習からNotch-Klingleonを介した長期記憶形成までの流れ

ると考えられている。ショウジョウバエと哺乳類は非常に類似した細胞外、細胞内の分子機構を用いて学習記憶を制御している為、ヒトでもKlgと同じ働きを持つ細胞接着因子の存在が予想される。このことから、家族性アルツハイマー病では、Notchの活性が低下し、その結果としてKlgに相当する細胞接着因子が働

かなくなり、最終的にLTM形成が障害されるのかもしれない。

参考文献

- [1] Keene AC and Waddell S: *Nat Rev Neurosci.* (2007) 8: 341-354
 [2] Margulies C et al: *Curr Biol.* (2005) 15: R700-713
 [3] Costa RM et al: *Trends Neurosci.* (2005) 28: 429-435
 [4] Moehlmann T et al: *Proc Natl Acad Sci*

USA. (2002) 99: 8025-8030

- [5] Dubnau J et al: *Curr Biol.* (2003) 13: 286-296
 [6] Matsuno M et al: *Proc Natl Acad Sci USA.* (2009) 106: 310-315
 [7] Ge X et al: *Proc Natl Acad Sci USA.* (2004) 101: 10172-10176
 [8] Mitsuda N et al: *J Biol Chem.* (2001) 276: 9688-9698

研究成果

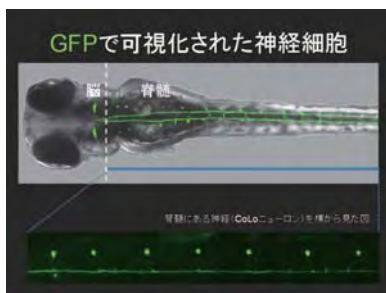
ゼブラフィッシュにおいて、逃避行動に重要な役割をはたす、特殊なクラスの交差型抑制性介在ニューロン

自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター 東島 真一

突然に襲われたとき、右に逃げますか？左に逃げますか？脳の中でも突然だと、右か左か、どちらに逃げようか迷うことがあります。そのようなとき、魚においては、最終的な判断を下しているのは、実は脳ではなく、脊髄の特殊な神経回路であることを、我々は明らかにしました。

GFPで脊髄の中で逃避行動に関わる神経細胞を光らせたゼブラフィッシュを利用して、突然刺激が来たときのその働きを解析しました。突然襲われたとき、脳はしばしば「左に逃げろ!」「右に逃げろ!」という両方の相反する指令を、ほぼ同時に、脊髄に出していました。このような時にでも、この指令が届くわずかな時間差を感知して、先に届いた命令だけに従いもう一方の指令を無視するように脊髄の特殊な神経細胞が働くことで、魚が素早くどちらかに逃げられることを明らかにしました。

生物が自然界で生き残っていくためには、突然の敵の襲来に際し、即座に反応し逃げる事が必須です。この逃避行動



ゼブラフィッシュの脊髄で、GFPによって可視化されたCoLo細胞。この神経細胞が、魚の逃避行動に関与していると考えられた。なお、脳で逃避行動を命令するマウスナー細胞(脳にある二対の細胞)もGFPで可視化されている。

を引き起こす神経回路に関しては、魚では、後脳に一对あるマウスナー細胞が逃避行動の開始の引き金となる事が知られています。マウスナー細胞は軸索を脊髄にまで伸ばし、直接、脊髄の運動神経を制御することで刺激と反対側への逃避運動を引き起こす。いわば、逃げろ!という指令を送るコマンドニューロンであるといえます。

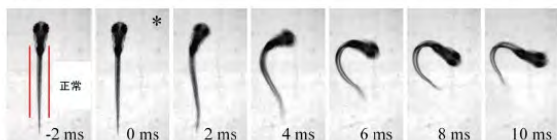
今回、我々の研究により、このマウスナー細胞はしばしば両方が間違っ発火してしまうこと、しかしながら、そのような時にでも、脊髄のCoLoニューロンと呼ばれる細胞が存在する事で、どち

らか一方への逃避行動が可能になっていることが明らかになりました。

東京大学武田研との共同研究により、エンハンサートラップラインより、脊髄においてきわめて少数(1体節に約1つ)存在する、CoLoと名付けられたニューロンがGFPで可視化されたラインを見いだしました。CoLoニューロンについて解剖学的、電気生理学的解析を行い、CoLoニューロンは(1)マウスナー細胞から電気シナプスの入力を受けて発火し、(2)軸索は交叉型で極めて短く、(3)魚の逃避運動時にのみ発火し、(4)反対側の運動ニューロンに抑制性のシナプスを作っている脊髄の特殊な神経細胞であることが明らかにしました。では、このCoLoニューロンは、実際の魚の行動時にどのような役割を果たしているのでしょうか?我々は、レーザーでCoLoニューロンを破壊した個体の行動にどのような変化が現れるのか検証しました。

すると、CoLoニューロンがレーザーで破壊された個体においては、しばしば体が硬直する逃避行動が観察されました。さまざまな条件で行動実験を行う

正常



脊髄のCoLo細胞を機能不全にした場合



CoLoニューロンがあれば、どちらか一方に逃げだすことができるが、CoLoニューロンを機能不全にした場合には、左、右、両方の指令がやってくるため、動くことができなくなった。

ことにより、この異常な逃避行動は、両マウスナー細胞がほぼ同時に発火した際に生じる現象であることが強く示唆されました(たとえば、CoLoニューロンに加えて、片方のマウスナー細胞を破壊しておくと、片側にしか逃避できなくなるが、異常な逃避行動は見られなくなる)。マウスナー細胞は、片側へ逃げろという

指令を出すコマンドニューロンなので、その両方が発火すると相反する指令が体幹部へ送られることになります。CoLo細胞を破壊した個体においては、この指令がどちらも、抑制される事がないので、両側の筋肉が収縮してしまったのだと考えられます。逆に、通常の魚においては、一方のマウスナー細胞からの指令をCoLo細胞が脊髄レベルで抑制をかけて無効化する事で、素早い逃避行動が可能になっていると考えられます。

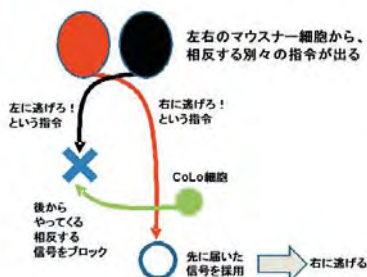
逃避行動は進化の過程で最適化され、中枢神経系にはそのための精巧な制御回路が構築されてきたと考えられます。魚の脳でも人間の脳でも、“突然”の事態が起きたときには、脳の中では

判断しきれず、相反する指令をほぼ同時に出してしまふことがあります。そうしたときに、少なくとも魚の脊髄では、ミリ秒、あるいはそれ以下、というわずかな時間差を感知して、脳の指令を取捨選択する仕組みが備わっていることが本研究により明らかになりました。脊髄内での情報処理は、私たちが一般に考えているよりも重要なのではないかと考えています。

本研究は、東京大学武田洋幸研究室、名古屋大学小田洋一研究室との共同研究です。

発表論文

[1] Satou, C., Kimura, Y., Kohashi, T., Horikawa, K., Takeda, H., Oda, Y., and Higashijima, S. (2009). Functional role of a specialized class of spinal commissural inhibitory neurons during fast escapes in zebrafish. *J. Neuroscience* 29, 6780-6793.



この研究成果について新聞に掲載されました。

危険！脳迷っても脊髄判断 逃避

東島准教授ら証明
米学会誌に掲載

岡崎・生理学研究所

魚が危険を察知して瞬時に逃避行動を取る際、脳が迷っても脊髄が判断して行動することが、自然科学研究機構・生理学研究所(岡崎市)の東島真一准教授と大学院生の佐藤千恵さんの研究で明らかになった。27日発行の米神経科学学会誌に掲載された。

研究は、熱帯魚のゼブラフィッシュを使って行った。通常、攻撃と考えられる音や振動などの刺激が左からあった場合は脳の指令で右に逃げ、逆に右からの場合は左に逃げる逃避行動を取っている。実験では、左右の方向性を無くすために真下から振動を与えて逃避行動を探った。その結果、脳が回避する方向を迷った場合、脊髄の判断によって最初に脳が出した方向に回避することがわかった。脳が最初に「右」と指令し、その0.002秒後に「左」という指令を出しても、先に送られた右へ動いた。後からの指令は、「コロ細胞」と呼ばれる特殊な神経細胞の働きで無視されていた。この細胞が無いと、矛盾する両方の指令を受けてうまく動けなくなることもわかった。

東島准教授は「これまでは、脳がすべてを判断すると思われていたが、今回の研究で、脳が混乱しても、身を守るために脊髄が最初の指令に沿って危険を回避していることがわかった」と話し、脳と脊髄の関係の解明につながるとしている。

読売新聞

(このほか毎日新聞、中日新聞、日刊工業新聞、日本経済新聞、科学新聞)

研究成果

ショウジョウバエにおいて、聴覚器の振動増幅はシナプス伝達に依存しない

東京薬科大学・生命科学部 上川内 あづさ

哺乳類の内耳にある有毛細胞は、音に応じた振動を蝸牛の内部で増幅しています。この「蝸牛増幅」の大きさは中枢からの遠心性神経によって調節されています。ハエや蚊といった昆虫の聴覚器においても「蝸牛増幅」に類似した振動増幅現象は観察されていますが、その調節機構は不明でした。今回の私たちの研究により、ショウジョウバエの聴覚器は、中枢神経から調節を受ける哺乳類の蝸牛とは異なり、中枢を介さずに局所的に振動を制御していると推定されました。ショウジョウバエの聴覚器は、それ自身が能動的な感覚器として振動を調節する自律性の高い器官だと考えられます。

多くの動物は、外界の情報を得る手がかりとして、音を利用しています。しかし動物はただ受動的に音を受け入れているわけではなく、どのような音を聞かせるかを様々な機構で能動的に調節しています。例えば哺乳類は、音が弱い時には「蝸牛増幅」というしくみで音受容器の感度を上げることが知られています。この「蝸牛増幅」においては、内耳の中で有毛細胞が伸縮することで、微弱な音由来の聴覚器振動が増幅されます。これによって私たちは、非常に弱い音でも検知することができるのです。さらに、この増幅の度合いは中枢から有毛細胞へ投射する遠心性神経によってフィードバック調節されています。これにより、振動増幅が適切な幅に保たれています。

ハエや蚊などの昆虫でも、弱い音に対して聴覚器の振動を増幅することで感度を上げることが知られていました。しかし、どのような機構でその振動増幅が適切な範囲に調節されるのかは不明な点が多く残されています。そこで今回の研究で私たちは、ショウジョウバエの聴覚器においても哺乳類の聴覚器と同様に、中枢神経が末梢受容器の感度を調節するのかを調べました。

1. 聴覚器におけるシナプスの分布

ショウジョウバエの聴覚器も、哺乳類と同様にシナプスを介した遠心性神経の支配を受けているのでしょうか？私た

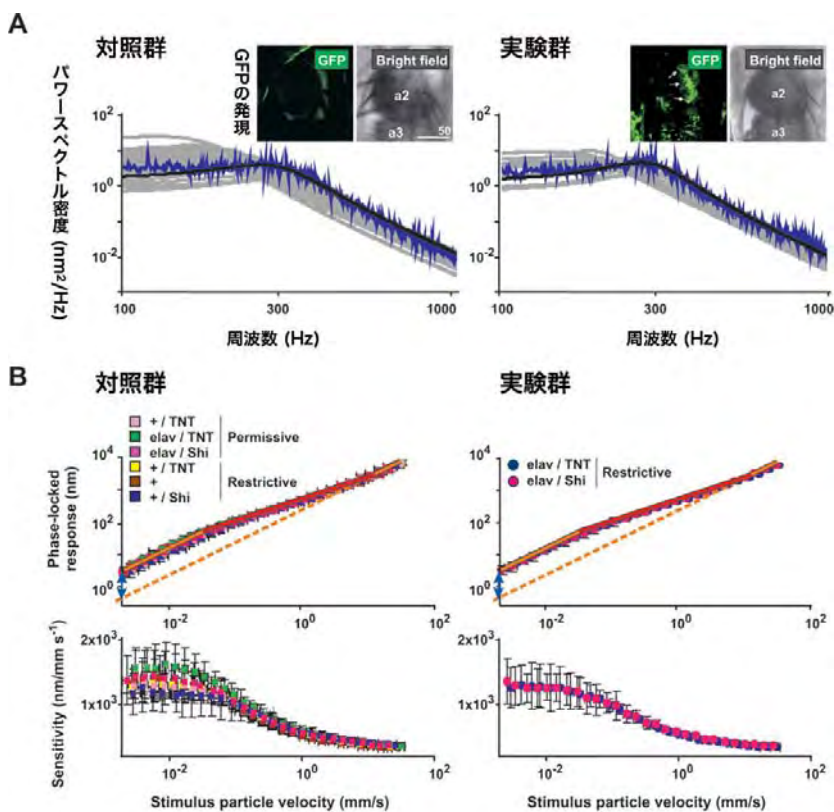


図1

A: 刺激がない時の聴覚器振動。聴覚器(触角)の周波数ごとの振動強度をパワースペクトル密度で示した。対照群の個体と全ての神経細胞の伝達を遮断した個体(実験群)において、聴覚器の振動特性には目立った差は見られない。青線は代表的な個体のパワースペクトル、黒線はそのパワースペクトルの関数近似、灰色はその他の個体のパワースペクトルの関数近似を示す。挿入図は、神経伝達を遮断する毒素の発現をGFPで標識して確認したもの。矢印はGFPシグナルを示す。スケールバーは50 μm を示す。a2, 触角第二節; a3, 触角第三節。

B: 音刺激を与えた時の聴覚器振動。平均値±標準偏差を示す。対照群個体(左図)において、音量(Stimulus particle velocity)が弱まると、聴覚器の振動は非線形的に増幅される(上図、赤線部分が非線形の領域を、オレンジ線部分が線形の領域を示す)。その増幅の度合いを、音量に対する聴覚器の感度として下図に示す。ごく弱い音に対する増幅の程度は、対照群と実験群でほぼ同等であることが分かる。

ちは、ショウジョウバエの聴覚器に出力シナプス部位に局在するシナプシン蛋白質が存在するかを解析しました。昆虫の聴覚細胞は軸索が脳へ投射する神経細胞です。そのため、聴覚器内部のシナプスの存在は、聴覚器が脳由来の遠心性神経の制御を受けている可能性を示唆します。しかし今回の解析では聴覚器内部にはシナプシンの分布は観察されず、聴覚器内部にはシナプスは存在しないことが示唆されました。

2. 聴覚器の振動応答

聴覚器振動の調節が何らかのシナプス伝達に依存しているかどうかをより直接的に調べるために、私たちは遺伝学を利用して、聴覚器の振動を測定するときだけ全ての神経細胞の化学シナプスの伝達を遮断しました。まずは音刺激を与えずに、聴覚器の自発的な振動を解析しました。この自発振動は、聴覚器の熱雑音による受動的な動きと聴覚細胞からの機械的なフィードバックによる能動的な動きの両方を反映しています。測定の結果、両者の聴覚器の振動特性には差は見られませんでした(図1A)。

次に、音があるときの振動を測定しました。音量と振動強度の関係を調べることで、音量に依存した非線形な振動増幅の度合いが定量化できます。個々の聴覚器の最適周波数の純音を用いて刺激した結果、振動増幅の度合いも、シナプス伝達を遮断した個体において対照群との差は検出されませんでした(図1B)。その他の聴覚器の振動に関する主要なパラメータ(最適周波数、周波数スペクトルの尖鋭度合い、自発振動力、振動増幅の度合い)や音に応じた神経応答も全て差は見られず、全神経細胞の化学シナプスを遮断した個体でも聴覚器の振動は全く正常に保たれることが分かりました。

3. 考察

以上の結果から、ショウジョウバエの聴覚器は、中枢神経から調節を受ける哺乳類の蝸牛聴覚器とは異なり、局所的に振動を制御していると推定されました。またその振動制御には、聴覚細胞から脳への化学伝達も必要としないことが分かりました。ショウジョウバエの聴覚器は、末梢器官そのものが振動

を調節する自律的な器官だと考えられます。以前の研究から、この振動制御には聴覚細胞で発現するTRPチャンネル群が必要であることが分かっています^[2]。今回の結果を合わせると、これらTRPチャンネル群自体が振動増幅を聴覚器において直接制御している可能性が提示できます。

参考文献

- [1] Kamikouchi, A., Albert, J.T. and Göpfert, M.C. (2010). Mechanical feedback amplification in *Drosophila* hearing is independent of synaptic transmission. *Eur. J. Neurosci.* 31, 697-703.
- [2] Göpfert, M.C., Albert, J.T., Nadrowski, B. and Kamikouchi, A. (2006) Specification of auditory sensitivity by *Drosophila* TRP channels. *Nat. Neurosci.* 9, 999-1000.



研究技術・手法

ビジュアルサーボ顕微鏡

東北大学情報科学研究科教授 橋本 浩一

ビジュアルサーボとはカメラから得られる情報を利用してロボットの運動を制御する技術である。顕微鏡はミクロの世界を拡大して見せてくれるが、観察対象(生物)が動くとすぐに視野の外に出る。ビジュアルサーボ技術を利用すれば対象を視野内にとどめられると考え、顕微鏡に電動ステージを組み合わせてロボット化した。つまり、顕微鏡に高速カメラを取り付け、顕微鏡下で運動する生物の像を画像解析し、運動をキャンセルする方向に生物が載っているステージを動かす。これを高速に繰り返すことにより、生物が動いているにもかかわらず生物の見たい箇所を大きな拡大率で観察することが可能となる。本領域では、神経科学におけるモデル生物である線虫の追跡を行い、刺激受容から神経情報処理、行動変化までの過程をすべて観察できるシステムへの実現を目指す。

生物を観察されている先生方へ

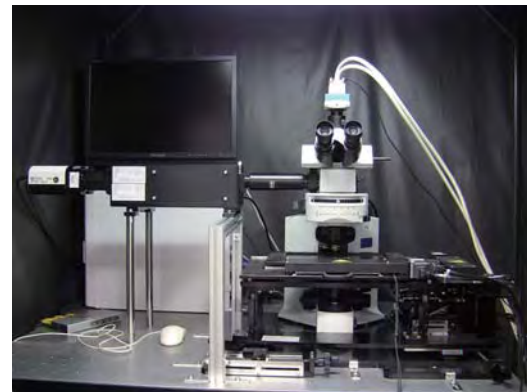
- ・対象が動いて困っていませんか？
 - ・対象を固定して、「これは見たい反応と違う」と感じていませんか？
 - ・もっとピンポイントで観測したいなあと思いませんか？
- ロボット技術がお手伝いします。

1. ビジュアルサーボ

自律的に作業するロボットに視覚は不可欠である。外界を認識し、環境に適応的に行動することがロボット自律性の根本課題である。私たちは高速なビデオカメラを用いて高速に画像処理し、反射的に行動するロボットを作ってきた。そのための基盤技術がビジュアルサーボである。フィードバック制御ループの内部にカメラと画像処理を組み込み、観測、画像処理、行動計画、モータ駆動を高速に繰り返すための制御理論的枠組みをビジュアルサーボと呼ぶ。

もっとも単純なビジュアルサーボの例として、2自由度のアクティブビジョンシステムがある。首振りカメラで侵入者を追跡する防犯システムを想像するとわかりやすい。アクティブビジョンシステムは対象の像が視野の中心に来るように縦横の回転関節を制御する。つまり、対象を見失わないように追跡することは、注目する対象と視野の中心のxy方向の誤差がゼロになるようにカメラの視線方向をフィードバック制御することで実現できる。

1秒間に1000枚(これを1000 frames per sec、1000 fpsという)の超高速撮影を行うと、160km/hの豪速球も1枚あた



り4cmしか進まないの、たいていの現象は「止まって見える」。また、対象の運動と同程度の速度が出せるアクチュエータを準備できるなら、対象を「止めて見せる」ことが可能である。

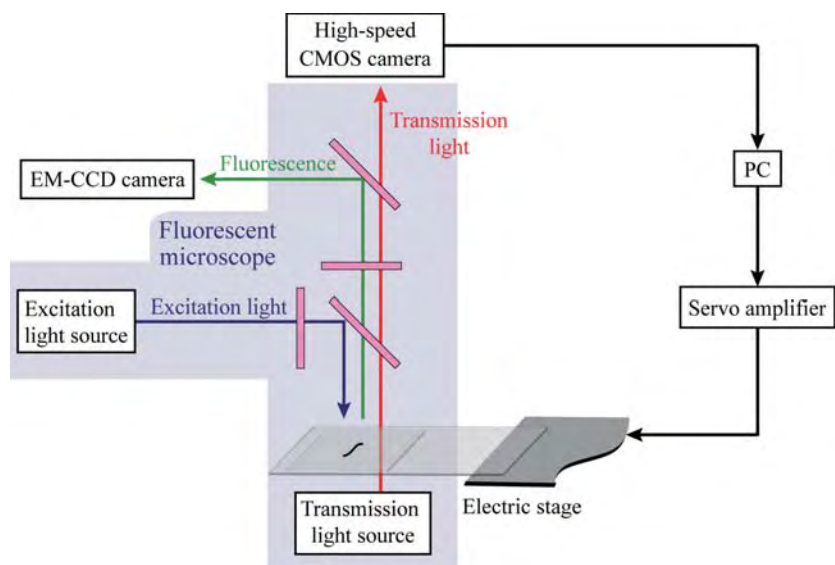
顕微鏡観察についても同様で、観察対象と同程度の動きを実現できる電動ステージを用意すれば、対象の動きをキャンセルするようにステージを動かすことで「止まって見せる」ことは可能である。

2. 止めて見せる画像処理

暗い背景の中を明るいピンポン球が動き、それを首振りカメラで追跡する場合には、1000fpsビジュアルサーボは期待通りに動作する。しかし実際はもう少し難しい。交差点に取り付けられた監視カメラを想像していただきたい。対象を背景から切り出し、ピントを自動調整し、車や人の陰に隠れても追跡し、変装しても見逃さないことが要求されたとしたら、画像処理はずっと複雑で難しくなる。

ゾウリムシの追跡はピンポン球に近い。しかし、顕微鏡の焦点深度は監視カメラに比べて非常に浅いのでピントの





自動調整が極めてシビアに効いてくる。私たちはゾウリムシ輪郭に生じる回折像を利用することでボケの方向を推定し、フィードバックにより焦点調整する手法を開発した。また、ゾウリムシの交差や溶液中のゴミにだまされない画像

処理方法を開発中である。

線虫の神経追跡は「ウォーリーを探せ」に近い。特定のパターンを探して追跡したいが、似たようなパターンが周りにたくさんあり、パターンそのものが変形する。私たちはテンプレートパターン

を高速に追跡する画像処理方法を開発し、変形を修正するアルゴリズムを開発中である。

3. ビジュアルサーボ顕微鏡

開発した生物追跡顕微鏡システムを用いることで電動ステージの変位情報から生物の運動軌跡が再構成できる。また追跡と同時に蛍光観察を行って細胞内分子のイメージングも可能となる。したがって、運動する生物の行動の変化を、体内で起こる分子レベルの細胞活動と関連付けながら計測することが期待できる。本領域では、このシステムの開発を進め、神経情報伝達のメカニズム解明に貢献したい。



研究技術・手法

Green Fluorescent Protein (GFP) を用いたカルシウムセンサーG-CaMPによる蛍光カルシウム測定

埼玉大学 脳科学融合研究センター センター長・教授 中井 淳一

1. はじめに

細胞内カルシウムイオン (Ca^{2+}) はセカンドメッセンジャーの一つであるが、神経細胞が活動する際にも Ca^{2+} は上昇することが多く、神経細胞の活動をモニターする目的でカルシウム測定がよく利用される。我々は *in vivo* で神経活動をモニターすることを目指して、GFP でできた蛍光カルシウムセンサーG-CaMP (ジーキャンブと読む) を開発している^[1] (図1)。G-CaMPを含むGenetically-

encoded calcium indicator (GECI) は、蛋白質でできたカルシウムセンサーで、DNAでコードされているため、適切なプロモーターを用いることにより細胞内で蛋白質に翻訳され機能する。特に *in vivo* での測定が簡便にできる利点がある。本講座ではGECIについて概説し、G-CaMPによる蛍光 Ca^{2+} 測定について述べる。

2. GECIの種類

GECIは大きく分けて、発光タイプと蛍光タイプの2種類に大別される。

2-1 発光カルシウムプローブ

発光カルシウムプローブとして良く知られているのがエクオリンである^[2]。エクオリンの遺伝子はアポエクオリンであるが、補助因子としてセレンテラジンを要求するので、使用に際してアポエクオリン遺伝子を発現させるとともにセレ



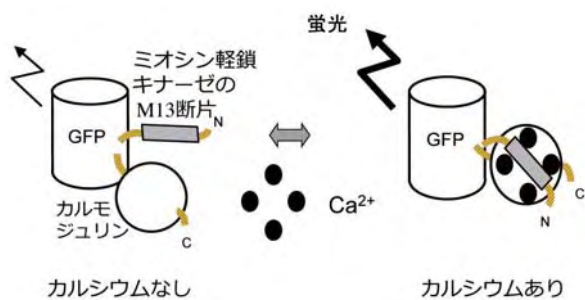


図1 G-CaMPの模式図
G-CaMPにCa²⁺が結合すると構造が変化し、GFPの蛍光が強くなる。

ンテラジンを外から補う必要がある。また、発光タイプのGECIは、1つの分子から出る光子の量が少なく、測定には露出時間を長くとる必要がある。

2-2 蛍光カルシウムプローブ

蛍光タイプのGECIは、下村脩博士が2008年ノーベル賞を受賞したことで有名なオワンクラゲのGFP(または類似の蛍光蛋白質)を用いている。蛍光タイプには2種類あり、cameleonなどのFluorescent resonance energy transfer (FRET)型センサーと、G-CaMPなどの単一蛍光蛋白質型センサーに分けられる。FRET型は1つのセンサー分子の中に2つの色の異なるGFP、例えばシアン色の蛍光を出すcyan fluorescent protein (CFP)と黄色の蛍光を出すyellow fluorescent protein (YFP)を持っている^[3]。このタイプのプローブは概して蛍光が明るく、CFPとYFPの蛍光比を測定することにより精度の高い測定が可能である。一方単一蛍光蛋白質型のGECIは、センサーの分子内に1分子のGFP(または類似の蛍光蛋白質)とカルシウム結合蛋白質のカルモジュリン (camgaroo)以外はさらにミオシン軽鎖キナーゼのM13断片を含んだ融合蛋白質で、カルモジュリンにCa²⁺が結合するとGFP(または類似の蛍光蛋白質)の構造に変化がおこり、その結果蛍光強度が変化する(図1)。このタイプに属するものにはcamgaroo, G-CaMP, pericam, case-16などがある^{[1], [4-6]}。単一蛍光蛋白質型のGECIの特徴は大きな蛍光変化が得られる点と、1波長測定による簡便さである。また、サイズが小さいためウイルスベク

ターにも組み込みやすい。さらに、多色の蛍光蛋白質を同時に発現させる際にも使える色に余裕がある。

3. G-CaMPによる細胞内Ca²⁺測定

我々は、蛍光タイプのGECI、特に単一蛍光蛋白質型GECIの特徴に魅力を感じ開発を行い、2001年にG-CaMP(現在ではG-CaMP1とも呼ばれる)を発表した^[1]。その後もG-CaMPの改良を続けG-CaMP1.6, G-CaMP2などを開発し、より明るく、また37度でも安定して蛍光を発するセンサーへと改良を進めていった^{[7], [8]}。

G-CaMP1は蛍光蛋白質として緑色の蛍光を発するGFPを用いている。したがって、GFPを蛍光観察できる環境があればすぐにG-CaMPを観察することができる。また、アルゴンレーザーによる励起(波長488nm)が利用できるのでほとんどすべてのコンフォーカル顕微鏡で測定することができる。2光子励起レーザー顕微鏡でも930nm近辺での励起によりG-CaMPを励起することにより測定することができる。

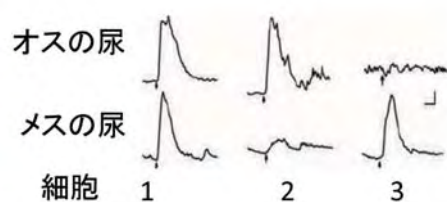
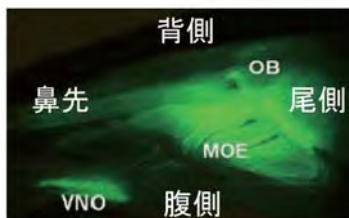


図2 G-CaMP2を嗅覚受容細胞に特異的に発現する遺伝子改変マウス(左) 蛍光画像。鋤鼻器(VNO)と嗅上皮(MOE)にG-CaMP2の強い発現が見られる。(右) 鋤鼻器(フェロモン受容に関連)の細胞にフェロモンが多量に含まれるマウスの尿を添加したところ、オスの尿とメスの尿で異なる反応が見られた。スケール:横軸 10秒, 縦軸 ΔF/F 0.2

3-1 in vivo Ca²⁺測定

GECIの魅力はなんといってもin vivo Ca²⁺測定での利用である。GECIは遺伝子でコードされているので、プロモーターを適切を選んで遺伝子改変生物を作成すると、細胞特異的、時期特異的なGECIの発現が可能である。

図2ではトランスジェニックマウスを作成し、嗅覚受容細胞に特異的にG-CaMP2を発現させた例である^[10]。G-CaMP2がフェロモンの受容器官である鋤鼻器の成熟した感覚細胞にほぼ一様に発現している。フェロモンを含む溶液を添加することにより多数の細胞でCa²⁺上昇が観察されている。

最近ではウイルスベクターに組み込んで長期間GECIを発現させCa²⁺測定することもよく行われる。図3はG-CaMP2を組み込んだアデノウイルスをマウスの小脳に注入した例である^[11]。アデノウイルスはアストロサイトとアストロサイトの一種であるバークマングリアに特異的に感染する。ウイルスの濃度を調整することにより、発現する細胞の数を極少数の細胞からほぼすべての細胞まで調節することができる。この例では麻酔下のマウスで、バークマングリアの自発性のカルシウム波が観察されている。

3-2 細胞内局所Ca²⁺測定

GECIは遺伝子でコードされているので、核移行シグナル、ミトコンドリアへの移行シグナル、形質膜への移行シグナルを付加することにより、それぞれ核、ミトコンドリア、形質膜直下のカル

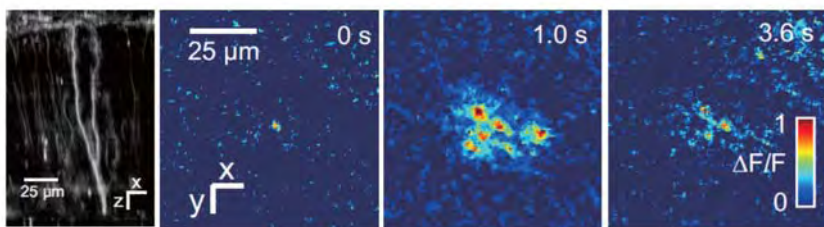


図3 マウス小脳のバグマングリアのin vivoカルシウム測定
アデノウイルスベクターを用いてマウス小脳のバグマングリアにG-CaMP2を発現させた。(左)極少数の細胞にG-CaMP2が発現している。この像では形態がよくわかる。(右の3枚)ウイルス量を増やし多数の細胞にG-CaMP2が発現している状態。左から右に経時的な変化を示す。自発的なバグマングリアのカルシウム波が観察される。

シウム濃度を測定することが可能になる。 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaseなど機能性蛋白質とG-CaMP2を融合させることにより、これらの蛋白質の近傍の局所 Ca^{2+} 濃度の変化を測定することも行われている^[12]。また、神経細胞ではシナプス前膜やシナプス後膜特異的に発現させることも可能である^{[13], [14]}。

た。我々が開発したG-CaMPはGFPと同じ蛍光スペクトル特性を持っているため、GFPを観察できる環境があれば導入することができる。最近では発生、再生の研究への利用も拡大している^[15]。G-CaMPを含むGECIは今後も性能がさらにアップし、使いやすいものが実験に利用できるようになると予想される。

4. おわりに

本講座では、GECIについて簡単に概説し、単一蛍光蛋白質型GECIであるG-CaMPを用いた蛍光カルシウム測定について測定例を示し利用法を説明し

参考文献

- [1] Nakai J, Ohkura M, Imoto K: *Nat Biotechnol* 19: 137-141, 2001
- [2] Shimomura O, Johnson FH, Saiga Y: *J Cell Comp Physiol* 59: 223-239, 1962
- [3] Miyawaki A, Llopis J, Heim R et al: *Nature* 388: 882-887, 1997



研究技術・手法

遺伝子発現誘導技術を活用した ショウジョウバエ神経細胞のラベルと解析法

東京大学分子細胞生物学研究所 伊藤 啓

神経細胞をラベルするには、組織化学的手法、特異的抗体を用いた染色法、色素を注入してラベルする手法などがあるが、これらの方法では細胞の位置や構造は解析できても、ラベルされた細胞の内部の細かい構造を調べたり、機能を調べたりすることは難しい。ショウジョウバエでは分子遺伝

学を利用してさまざまな外来遺伝子を特異的に発現させることで、より多様な解析を可能にしている。

1. 特定の細胞群をラベルする技術

外来遺伝子を発現させるには、【1】外

来遺伝子を特定の遺伝子の上流のプロモーター配列につなげてゲノムに挿入する方法、【2】ゲノムの中の1ヶ所に弱い非特異的プロモーターのついた外来遺伝子を挿入し、近傍の転写活性調節領域(エンハンサー)の作用で発現させるエンハンサートラップ法、の2種類の方法がある。導入する遺伝子は、GFP



など細胞の可視化に便利な遺伝子を直接利用することもあるが、ショウジョウバエでは後述する多彩な実験を可能にするため、酵母由来の転写調節因子 GAL4や、大腸菌由来の転写調節因子 LexAを利用する方が一般的である。これまでに多くの系統が作成され、ストックセンター等から公開されている。

一般に内在遺伝子の発現は、すぐ上流のプロモーターによる特異性と、より広いゲノム領域の活性を左右するエンハンサーによる特異性の、2種類によって制御されている。上記の1の方法では前者のみ、2の方法では後者のみを利用していることになる。このため、内在遺伝子のプロモーターにつなげた外来遺伝子や、内在遺伝子の近傍に挿入されたエンハンサートラップ遺伝子の発現パターンは、内在遺伝子と常に一致するとは限らない。安易な実験は危険であり、mRNAの発現パターンと詳しく比較するなどのきちんとした注意が必要だし、論文で報告されている内容が必ずしも正確だとは限らない。一方、単に一部の細胞群をラベルする手段を得ただけであれば、内在遺伝子の発現との違いは問題にはならない。

残念ながらショウジョウバエではES細胞が実用化されていないので、内在遺伝子の位置に外来遺伝子を入れ替えてプロモーターとエンハンサーの両方の制御を反映させる厳密な遺伝子ノックインの技術は、不可能ではないがあまり実用的でない。

2.ラベルされた細胞群で遺伝子発現を誘導する技術

GAL4やLexAタンパクは、標的配列であるUASやlexAop配列の後方にある遺伝子の発現を誘導する。GAL4は標的配列認識部位GAL4 DNA-binding domain (GBD)と発現誘導部位GAL4 activation domain (GAD)の両方を持っているが、LexAは標的配列認識部位し

か持っていないので、GAL4の発現誘導部位であるGADやヘルペスウィルスの発現誘導部位であるVP16を融合させて用いる。

GADの作用は、酵母由来のGAL80タンパクで拮抗的に阻害できる。このタンパクの温度感受性変異体GAL80^{ts}をactinやtubulinなどの非特異的プロモーターにつなげて共発現させておくと、飼育温度が20℃以下ではGAL4やLexA::GADによる発現誘導がGAL80によって阻害され、飼育温度を30℃以上に上げると阻害が解除される。これによって、外来遺伝子発現の発現時期特異的な効果を調べたり、毒素遺伝子を一定の時期だけ発現させたりできる。VP16はGAL80の影響を受けないので、GAL4とGAL80を組み合わせた実験でLexA発現細胞を解析したい場合には、LexA::VP16が有効である。(ただしLexA::VP16はLexA::GADよりも一部の細胞で細胞毒性が高い傾向がある。)

3.ラベルされた神経の構造や活動状況を解析する技術

神経線維の構造を解析するには、GFPやRFPのような蛍光タンパクや、それを細胞の膜や核、出力シナプスや入力シナプスに局在するさまざまなタンパクと融合させたものを発現させて、細胞を可視化する(表1)。出力シナプスの局在の可視化には、シナプス小胞のドッキングに関与するタンパクと融合させる方法が有効である。入力シナプスを可視化するには、昆虫脳の大多数の神経細胞で発現が見られるGABA受容体と融合させる方法が実用化されているが、局在性が低く細胞体などもラベルされてしまう欠点がある。細胞接着因子DsCAMは樹状突起様の部位をラベルするといわれているが、入出力シナプスの局在とは明確な相関がないので、注意が必要である。

神経活動のモニターには、カルシウ

ム濃度やシナプス部の局所pHに依存して蛍光強度が変化するタンパクを発現させる。GCaMPのように1つの蛍光分子の構造変化で蛍光強度が変化するものは素早い応答が観察できる反面、標本が動いてしまった場合とシグナルが変化した場合の区別が難しい。カメレオンのように2つの蛍光分子間で構造が変化する場合は、応答は遅い反面、2つの波長で蛍光強度を観察するため標本の動きとシグナル変化の区別がしやすい。また、GCaMPやカメレオンにはさまざまなバージョンがあるが、調べたい細胞で生じるカルシウム濃度の変化域に応じて最適な分子は異なり、必ずしも最新のものがよいとは限らない。

4.ラベルされた神経の機能を特異的に阻害する技術

ラベルした神経細胞からの情報伝達を特異的に阻害するには、シナプス小胞のエンドサイトーシスによる再生産に必要なダイナミンタンパクの温度感受性優性変異shibire^{ts}を用いるのがもっとも便利で、20℃で飼育すれば影響がなく、30℃に上げるとシナプス小胞が枯渇して伝達物質の放出が阻害される。温度を上げるとわずかな時間で阻害が始まり、温度を元に戻すと阻害効果が速やかに消失するため、時期特異的な阻害実験に有効である。

しかし、30℃はハエの行動至適温度よりもかなり高いため、一部の行動はこの温度では精度よく解析できない。この場合には、シナプス小胞のシナプス前膜へのドッキングを阻害する破傷風毒素テタヌトキシン(TNT)遺伝子が発現させる。この遺伝子は恒常的にシナプス伝達を阻害するため、前述のGAL80^{ts}と組み合わせて時期特異的に発現させる。30℃で1日程度飼育するとGAL80の抑制が解除されてTNTが発現し、細胞内に蓄積されるので、その後温度を行動至適温度(24℃前後)に下げ



ても数時間にわたってシナプス伝達の阻害が続く。

5. ラベルされた神経の活動を特異的に昂進させる技術

ラベルした神経の活動を特異的に昂進させるには2つの方法がある。光をあててチャンネルを開かせる方法は、時間分解能が高い反面、光の吸収のためにクチクラを通して脳深部の神経を励起するのが難しかったり、突然の光照射そのものにハエが反応して、通常と異なる行動を起こすことがある。温度に依存してチャンネルが開くTRPチャンネルを発現させる方法では、光照射より時間分解能は落ちるが、ハエは体重が1mgと軽く熱容量も小さいので、体温を急速に変化させることができる。しかしハエを高温(30℃程度)か低温(15℃程度)に置くため、一部の行動では温度による影響が起こりうる。

6. ラベルされた細胞を除去したり、遺伝子機能を阻害したりする技術

特定の細胞を除去するには、毒素遺伝子やプログラム細胞死を誘導する遺伝子を発現させる。GAL80^{ts}と組み合わせると時期特異的な細胞除去も可能で

目的	発現させる遺伝子	備考
細胞体・神経線維のラベル	GFP DsRed	クラゲ緑色蛍光タンパク サンゴ赤色蛍光タンパク
細胞核のラベル	NLS::GFP	ウィルス核移行シグナル
細胞膜のラベル	mCD8::GFP, rCD2::GFP	膜タンパク
出力シナプスのラベル	n-syb::GFP syt::GFP, syt::HA	シナプトブレビン/VAMP シナプトタグミン
入力シナプスのラベル	Rdl::HA	GABA受容体
「樹状突起」様部位のラベル	DsCAM::GFP	神経接着因子
神経活動イメージング	GCaMP Cameleon synapto-pHluorin	カルシウム濃度に依存して蛍光強度変化 カルシウム濃度に依存してFRET量変化 シナプス部のpHに依存して蛍光強度変化
情報伝達のブロック	shibire ^{ts} tetanus toxin (TNT)	シナプス小胞のリサイクルを阻害 シナプス小胞と前膜のドッキングを阻害
神経の活性化誘導	channel rhodopsin TRP channel (各種)	光刺激でチャンネルを開く 温度上昇または低下でチャンネルを開く
細胞の除去	ricin reaper	豆由来の毒素 細胞死の誘導
遺伝子機能のノックアウト	任意の遺伝子のRNAi配列	RNAi

表1：発現を誘導する遺伝子とその効果(代表的な例)

GAL4発現細胞で発現を誘導する遺伝子	LexA発現細胞で発現を誘導する遺伝子	解析内容
GFP	DsRed	2種の神経の投射パターンを空間的に解析
DsRed, n-syb::GFP	DsRed, Rdl::HA	GAL4発現細胞の出力シナプスとLexA発現細胞の入力シナプスが接している情報が伝わるかを解析
DsRed, Rdl::HA	DsRed, n-syb::GFP	GAL4発現細胞の入力シナプスとLexA発現細胞の出力シナプスが接している情報が伝わるかを解析
Split GFPの一端	Split GFPの他端	2つの神経が100nm程度以下に近づいて接しているかどうかを解析
毒素遺伝子, RNAi,	GFP等	GAL4発現細胞を除去もしくは機能阻害したときにLexA発現細胞に非自律的な構造変化が生じるかを解析
毒素遺伝子, RNAi, channel rhodopsin TRP channel 等	GCaMP Cameleon synapto-pHluorin	GAL4発現細胞を除去、機能阻害もしくは機能昂進させたときにLexA発現細胞の神経活動に変化が生じるかを解析

表2：2種の遺伝子で発現を誘導する遺伝子と、可能な解析(代表的な例)

ある。GFP等で細胞を可視化するには膨大な数の分子が産生される必要があるが、細胞死はわずかな量の分子が産生されれば生じうる。従って、GFPでほとんど可視化されないような細胞も影響を受けることがあるので、注意が必要である。

内在遺伝子の中の一部の配列とその逆配列をつなげたものをUASにつないで発現させると、二重鎖RNAが形成され、RNAi効果によってその遺伝子の機能を阻害できる。遺伝子や配列によって効果に差はあるが、ゲノム中の多くの遺伝子についてRNAi誘導用の系統が組織的に作成され、ストックセンター等から提供されている。

7. 2種の神経細胞を同時にラベルして解析する技術

GAL4とLexAを組み合わせると、異なる遺伝子の発現を異なるパターンで同時に誘導できる。これによって、単に2種類の神経を染め分けるだけでなく、一方の発生や機能を阻害したときに他方の形態や神経活動がどのように変化するかを解析することもできる(表2)。

8. ラベルされた細胞の、さらに一部のみを絞りこむ技術

一般に遺伝子は脳のさまざまな場所で同時に発現しているため、GAL4やLexA系統はこのような細胞をすべて同時にラベルしてしまう。酵母由来の組み替え誘導因子flippase (FLP)とその組み替え標的配列FRTを用いることで、熱ショックプロモーターにつなげたFLP遺伝子をマイルドな熱ショックで発現させ、一部の細胞だけで組み替えを起こさせてラベルすることができる。これには、【1】UASやlexAop配列と発現させたい遺伝子の間に、別の遺伝子を2つのFRT配列でサンドイッチしたものをはさみこんで、中間のFRT配列を染色体内組み替えで除去して一部の細胞だけで標的遺伝子の発現を可能にするFLP-out法と、【2】相同染色体の片方にGAL80、もう片方に発現させたい遺伝子を入れておき、それらの染色体の付

け根に組み込んだFRT配列の間で染色体間組み替えを起こさせてGAL80を持たない細胞を作り出すMARCM法がある。後者の方が複雑だが、突然変異遺

伝子も同時に組み込むことでホモ接合の変異細胞のみを可視化することも可能だというメリットもある。どちらの方法も、FRTの組み替えが起きなかった残

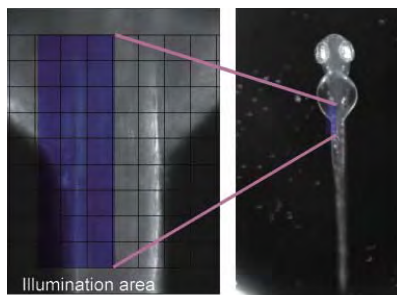
りの細胞もラベルする方法が用意されており、実験目的に応じて適宜使い分ける。

研究技術・手法

DMD顕微鏡

自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター 東島 眞一

チャンネルロドプシンなどの光応答性チャンネル、あるいは、ハロロドプシンなどの光応答性ポンプを興味のある細胞に発現させ、光を用いて神経細胞の活動を変化させることが技術的に可能になってきた。それにより、動物の行動を変化させることも可能になってきている。このような研究を行う際に、研究者が指定した任意の領域に光刺激を行うことができれば、その応用範囲は大きく広がる。これを可能にする手段として、デジタルマイクロミラーデバイス (DMD) がある。DMDは、高速コントロール可能(ミリ秒以下)な微細ミラーが平面に敷き詰められたデバイスで、市販のプロジェクター(液晶ではなく、DLPタイプのもの)で使われている。DMDを用いた励起光照射は、深野・宮脇によって実用化されている^{[1], [2]}。また、パターン化刺激に合わせて、動物の行動の全体を捉えることも望まれる。我々が使用しているゼブラフィッシュ幼



あるクラスの神経細胞でChR2を発現する魚に対して、DMDを介した光刺激を行った例。左が上部CCDカメラの像で、青色のエリアに照射領域をセット。中央(刺激前)と右(刺激後)は高速度カメラの像。光刺激により、運動が誘発されている。

魚の行動観察を蛍光観察とともに行うことに関しては、正立顕微鏡の下部に2X対物レンズを取り付けることによるマクロイメージングが小橋・小田らにより報告されている^[3]。

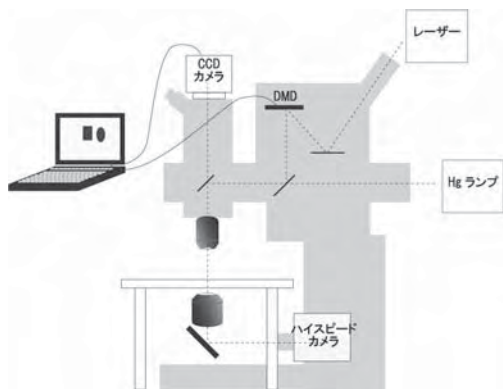
そこで我々は、上記の両方を取り入れた顕微鏡、すなわち、上部からのDMD照射と、下部からのマクロイメージングの双方を併せ持つ顕微鏡を作製した(左下図)。試料面とDMDは対物レンズに対して共役であり、DMDのパターンは、試料に縮小投影される。パターンは、CCDカメラを通して得られた蛍光像(ないし透過光像)の上に、コンピューターを介して描くことができる。照射時間はミリ秒単位でコントロール可能である。下部のマクロイメージング側には2X対物レンズの像がハイスピードカメラ(1フレーム/ミリ秒)に結ばれるようになっている。図には示していないが、ファイバー照明を行うことで魚の像を得る。この顕微鏡を用いてChR2発現魚に光刺激を行った例を右上図に示す。頭の部分は寒天に埋めている魚に対して、光刺

激により運動が誘発されている。

本稿で記したDMDパターン照射顕微鏡は、同様のものが九州大学石原研究室に、本領域の共通顕微鏡として導入されている(ただし、下部は通常のコンデンサーによる透過光照明で、上部には高速度FRETイメージング機材が搭載)。<謝辞>マクロイメージング部のデザインは、名古屋大生命科学研究科の、小橋常彦、小田洋一博士が考案されたものをお許しを得て踏襲させていただきました。両博士に深く感謝いたします。

参考文献

- [1] Fukano, T and Miyawaki, A. (2003). Whole-field fluorescence microscope with digital micromirror device: imaging of biological samples. *Applied Optics*, 42: 4119-4124.
- [2] 深野, 宮脇 2003. デジタルマイクロミラーデバイスを用いた蛍光顕微鏡 *光学*, 33: 718-720
- [3] Kohashi T, Oda Y. (2008). Initiation of Mauthner- or non-Mauthner-mediated fast escape evoked by different modes of sensory input. *J. Neurosci.* 28: 10641-10653.



「刈り込み (pruning)」の生理的意義とメカニズムの理解を目指して

東京大学大学院理学系研究科・生物科学専攻 (現) 理化学研究所・脳科学総合研究センター行動遺伝学技術開発チーム 林 悠

— ニューロン間を結ぶ神経突起やシ
— ナプスが出来上がる仕組みの理解が進んだ今、逆にこれらのものが除去される「刈り込み (pruning)」と呼ばれる現象が、大きく注目されています。新生児期から思春期にかけて盛んに起こり、脳発達に重要な役割を担うと予想されるからです。また、最近ではショウジョウバエの変態時に起こる刈り込みに着目した研究も増え、昆虫の研究者にも馴染み深い現象となりつつあります。しかしながら、刈り込みが正常に起こらないと脳機能にどのような影響があるのか、あるいは除去される神経突起とされない神経突起がどのようにして決まるのか、などの基本的なこともまだよく分かっていませんでした。今回、本領域内の3研究室(東京大学大学院、久保健雄教授・飯野雄一教授および九州大学大学院、石原健教授の研究室)の共同研究により、線虫Cエレガンスを用いてこの現象の理解を目指しました。

1. 線虫における刈り込みの発見

久保教授の研究室では、ミツバチの複雑な生態の分子基盤を理解するアプローチの一つとして、脳内に発現する遺伝子の探索が行われてきました。当研究室では、ミツバチで同定された遺伝子を解析する手段として、筆者の先輩である中臺(鹿毛)枝里子博士(現・東京女子医科大学・助教)により、飯野教授や東京大学大学院、新井洋由教授の研究室の助力のもと、線虫Cエレガンスが導入されました。筆者も大学院時に久

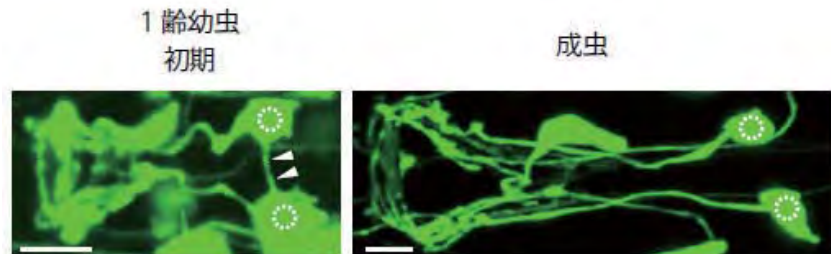


図1: 私たちが発見した線虫C.エレガンスにおける神経突起の刈り込み。刈り込みを受けるニューロンの細胞体と神経突起をそれぞれ点線と矢頭で示しています。

保教授の研究室で、ミツバチで同定された遺伝子の線虫ホモログを解析していましたが、その過程で、線虫の成長に伴い刈り込みが起こることを発見しました。図1に示すように、線虫の頭部にあるいくつかのニューロンが、ふ化直後に観察すると神経突起で互につながっているのに対し、成体ではつながっていませんでした。2004年当時、線虫では成長に伴う大きな神経回路のリモデリングはほとんどないと考えられていましたので、この発見に私たち自身とても驚きました。また、線虫のモデル生物としての有用性を踏まえ、この発見を機にこの現象の理解に大きく貢献できるのではと期待しました。

2. 共同研究を通じて明らかになった分子機構

様々な変異体を解析する中で、私たちは刈り込みを制御する遺伝子を複数同定することに成功しました。そこで私たちは、熟練した遺伝学の技術を有する飯野教授の研究室の國友博文助教や岩田遼氏の協力のもと、それぞれの遺伝子が刈り込みを受けるニューロン自

体で働くのか他の細胞で働くのか、あるいは複数の遺伝子を同時に失わせるとどうなるのか、などを調べました。これにより、図2に示すようなモデルに到達しました。要約しますと、この共同研究の成果は、次の二点において非常に有意義であると考えられます: 一、神経突起の除去を促進する経路だけでなく、神経突起を積極的に維持する経路も存在し、両者のバランスにより特定の神経突起が刈り込まれるか否かが決まることを示した点。二、刈り込みの制御に周囲のニューロンも関与すること、及びそのメカニズム(これまで神経機能の知られていなかった非標準Wnt経路)を明らかにした点。

なお、余談ではありますが、私たちが本成果の一部を2009年に科学誌に投稿した際には、レビューアーから膨大な量の追加実験を要求されました。三重変異体の作製なども含まれ、筆者は途方に暮れていましたが、岩田氏に相談した際に、順遺伝学のマッピングに比べたら大した実験ではないと言われ、とても心強く感じたことをよく憶えています。(現に彼の協力のもと、私たちは全ての追加実験を達成できました。)

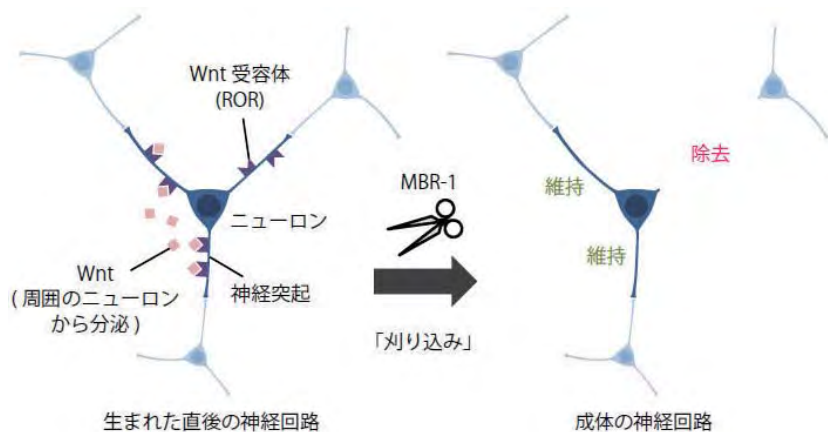


図2: 共同研究から明らかとなった刈り込みの分子メカニズム。刈り込みの度合いは、神経突起の除去を促進する転写因子MBR-1と、周囲のニューロンから分泌され刈り込みを抑制するWntのシグナルのバランスで決まることが分かりました。

3. 行動解析から刈り込みの生理的意義の解明に挑む

では幼少期に刈り込みが起こらないと、成体の行動にどのような影響が現れるのでしょうか?この点に関しては、石

原教授の研究室の広津崇亮助教と一緒に取り組んできました。広津助教は飯野教授の研究室に在籍していた時に、線虫が一度嗅いだ匂いを記憶できることを発見していました。共同研究の結果、興味深いことにこの匂いの記憶は、刈り

込みの起こりにくい変異体だと形成されにくく、逆に刈り込みの起こりやすい変異体では形成されやすことが分かりました。

私たちは現在、次のような仮説を立てています:「発生期には、多くのニューロン同士がコミュニケーションを取り合うことがネットワークの発達に有利であり、一方、生後は、適切な行動を取るためにニューロン同士の接続が限定的である必要がある。そのため幼少期に刈り込みが起こる。」本領域内の研究者の技術力を合わせれば、今後、特定の時期に特定の神経接続を破壊するなどの高度な実験も実現でき、この仮説をさらに検証できるもの

と期待しています。



領域ホームページの紹介

ホームページ (<http://www.molecular-ethology.jp/>) では情報を随時更新しています。

活動の内容、研究成果、班会議やワークショップの情報などをご覧いただけます。



イメージング支援

本研究領域では、行動を制御する神経回路の機能をシステムの振る舞いとして明らかにすることを目指しています。そのためには、神経活動をリアルタイムでかつ非侵襲的に測定することが重要と考えています。イメージング支援班(九州大学理学研究院・石原健、東京大学大学院総合文化研究科・佐藤守俊)では、イメージングに利用できる顕微鏡システムを、本研究領域として準備し、班員の方の研究に共同研究ベースで利用できるように計画しています。また、使用するプローブなども含めて、イメージングに関する支援を行うことにしています。

(1)顕微鏡システム(九州大学に設置)

線虫やゼブラフィッシュなどにおいて多数の神経の活性を4Dイメージングにより同時に測定するため、高速共焦点顕微鏡システムとして利用できるほか、パターン照明装置により、視野の任意の位置に任意の波長の光を照射することが可能です。

主な仕様

顕微鏡部分:

ステージ可動型正立顕微鏡(オリンパス)

共焦点部分:

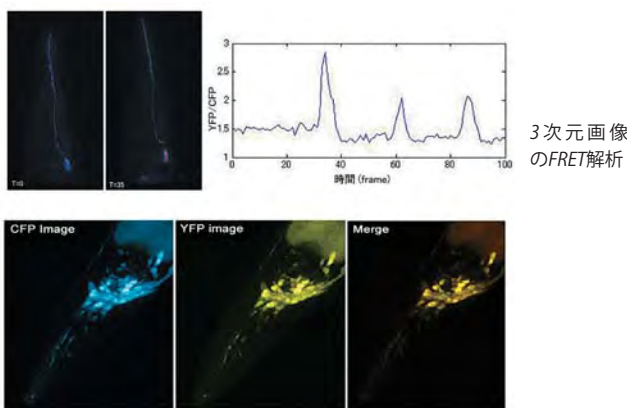
レーザー4波長(445nm, 473nm, 488nm, 561nm)
ニポウディスク式共焦点ユニット(横河CSU-X1)

画像取得部分:

EMCCDカメラ(Andor iXon DU-897)
2波長同時取得可能
取り込みソフトウェア(Andor iQ)

パターン照明部分:

DMDによる高速パターン照明



平成22年度初めに講習会を開催する予定です。

また、班員の方の要望に応じて、機能・フィルターなども追加することが可能です。

(2)ワークショップなどで、イメージング技術を積極的に取り上げ、班員が最新のイメージングに取り組める体制を整える予定です。

(3)要請があった場合、支援班員が協議して助言などを、主に電子メールで行います。

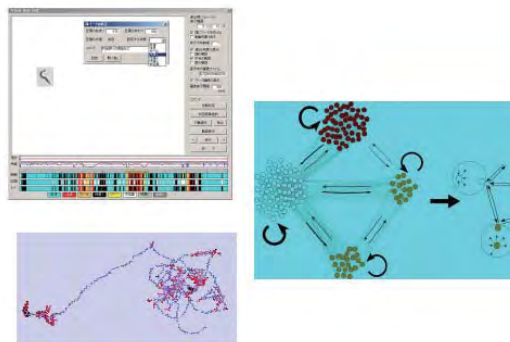
数理支援

本研究領域の研究では、分子から行動までの様々な対象からのシグナルが計測されます。公募研究においては比較的短期間に研究成果を出すことが求められています。そこで、数理支援班(岩手大学・工学部・新貝鉦蔵、東京大学大学院・情報理工学系研究科・増田直紀)が、公募班員を対象として、計測に伴う情報処理や数理的問題について以下の支援を行います。

(1)要請があった場合、支援班員が協議して助言や専門家の紹介等の支援を、主に電子メールで行います。

(2)助言のために要請者の実験現場を見ることが必要と判断される時には、要請者の了解を得て支援班員またはその代理者が出張して助言する場合があります。

班員の方々はお気軽にご連絡ください。



アウトリーチ

高等学校を訪問して2回の出前授業を行いました。

1)盛岡市立高等学校

日 時:2009年6月4日(木) 13:30~15:35 (2時間5分)
 高校側の出席者:2年生および3年生生徒 計36名 および高校教諭3名
 講 師:新貝
 実 習 補 助:技術職員1(業務依頼)、院生2、卒研生2
 講 義:「線虫C.エレガンスはモデル生物ですー特に神経の働きと行動についてー」30分
 実 習:生徒をグループに分けて、線虫の化学走性(誘因行動または忌避行動)、および接触刺激に対する忌避行動の実験(いずれも野生種と変異種を比較)1時間25分; 実験のまとめ 10分



2)岩手県立遠野高等学校

日 時:2009年7月23日(木) 14:25~17:00 (2時間35分)
 高校側の出席者:講義 生物を主教科に取っている生徒20名+物理を主教科に取っている生徒17名=計37名、高校教諭2名; 実習 生徒20名と教諭1名
 講 師:新貝
 実 習 補 助:技術職員1名(業務依頼)、院生2名
 講 義:50分
 実 習:1時間35分 内容は1)とほぼ同じです。
 感想 など:盛岡市高校から後日、感想文が届きました。「難しかったが面白かった」という文がありました。高校生が線虫を短時間で扱えるようになったのに驚き、教える側も自信ができました。授業時間の確保など、多大なご協力を頂いた盛岡市立高校の丘村亜己先生、遠野高校の城守寛先生に感謝します。



高校生向けの実習授業を開催しました。

研究領域における研究の成果を一般にアピールするとともに高等教育に役立て、将来この分野の研究を志す若者たちの育成に寄与するため、高校生向けの実習授業を開催しました。

日時:平成21年7月21日10:00~17:00

場所:東京大学理学部3号館 飯野研究室

対象:法政大学女子高等学校2年生女子生徒9名

講師:飯野雄一、國友博文、富岡征大

T A:大野速雄、吉田和史、姜 涛

実習内容:

「線虫C.エレガンスの観察:遺伝子の変異と表現型」

1. 実体顕微鏡を用いた線虫の観察
2. 微分干渉顕微鏡を用いた線虫の器官の観察
3. 化学走性行動の観察(化学走性アッセイ)

1. では実体顕微鏡の使い方を指導した上で、線虫の胚、幼虫、成虫を見比べ、一般的な動き、ピンセットで刺激を与えた時の応答の様子を観察した。また、雄と雌雄同体との交尾行動を観察した。次に各種変異体の観察を行った。用いた変異体はダンビー(体が太短い)、アंक(動きが悪い)、プリスター(水ぶくれ)、*let-60(gf)*(陰門過形成)、*npr-1*(社会性行動)であった。遺伝子と変異表現型の関係についての解説を行った。

2. では実習担当講師が蛍光実体顕微鏡および蛍光微分干渉顕微鏡を用いて、線虫の体の構造(腸、生殖線、配偶子、胚など)を説明したのち、細胞の核にGFPが局在するトランスジェニック株、神経細胞にGFPを発現させた株、シナプスにGFPが局在する株を見せつつ、GFPが光る原理の説明や、細胞や神経細胞の構造についての説明を行った。

3. では野生型株と*che-2*株(感覚神経の異常)を用いて化学走性のテストを行った。寒天培地上に化学物質をスポットすることにより濃度勾配を作らせ、そこに線虫を置いて線虫の移動を計数により評価した。味物質として食塩(NaCl)を、匂い物質としてコーヒーを用いた。さらに、生徒らに味や匂いのするもの(香水、醤油、胡椒、レモン等)を自由に持参させ、これに対して線虫がどう反応するかを同時に実験した。味物質は寒天中での拡散に時間がかかること、匂い物質は直接の接触がなくてもよいことを理解させた。また、感覚神経異常の変異体について考察させ、線虫が化学感覚器での受容によりこの行動を行っていることを説明した。

最後に生徒らに感想を述べて実習を締めくくった。持参した物質への応答が意外であったことを述べた生徒、将来科学者になりたいと述べた生徒、丁寧な説明に感謝した生徒などがあつた。なお、本実習は科学技術振興機構サイエンス・パートナーシップ・プロジェクト(SPP)「生きた生物を通して、生物の多様性とDNAの働きを学ぶ ~線虫・サンゴ・メダカを中心に~」(法政大学女子高等学校)との共催として実施した。



17th International *C. elegans* Meeting に参加して

藤原 学
九州大学大学院 理学研究院

この6月、新学術領域研究若手研究者海外派遣プログラムCの助成金を受けて17th International *C. elegans* Meetingに参加させていただきました。この学会は発表数約1200、参加者数1600人を超える、線虫*C. elegans*研究者にとって最大の国際学会です。隔年ごとに開催されるこの学会に私が参加するのは7回目ですが、朝の9時から夜の11時までみっちりセッションが組まれた4日間は毎回得るものが多く、最後まで振り落とされないように必死でしがみついているような緊張感があります。今回は神経関係の他にゲノミクスや細胞生物学など雑多なセッションをのぞいてまわったので、感想文といっても散漫な独り言のようになってしまうことをお許し下さい。

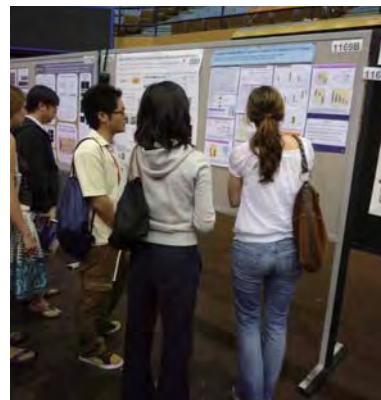
今回の学会で驚いたことのひとつに、次世代シーケンサーを用いた解析いわゆるdeep sequencingが既にいくつかの研究室でルーチンに行なわれその結果が報告されていたことがあります。例えば、miRNA経路の主要な構成因子の一つ、Argonauteに対する抗体をもちいてmiRNAとその標的配列ごと免疫沈降し、標的配列をdeep sequencingで解析し、生体内のmiRNAによる遺伝子発現調節機構を網羅的に明らかにするプロジェクトは目を引きました。また、発生初期に飢餓状態を経験すると栄養状態が回復した成虫期以降もヒストンのメチル化状態が変化していることを、メチル化ヒストンの結合するゲノム領域のdeep sequencingで明らかにした発表も、ゲノムに刻まれた発生の記憶が存在することを示してとても興味深いものでした。このような発表を聞くと、ゲノム全体から生命現象を俯瞰する視点を私たちは(お金さえあれば)手に入れたことを実感しますが、同時に、何を解くのかということこそ焦点であることを痛感させられます。もちろんdeep sequencingといえば、(遺伝学者のだれもが一つや二つフリーザーにしまっているであろう)原因遺伝子の同定が難航/失敗した手持ちの変異体の解析に使えるかもという期待があります。学会で会った多くの研究者仲間が「うちはこれくらいの料金でどこそで頼んでいる」というような情報交換を盛んにしていました。アメリカではバークリーのように大学の施設がサービスを提供しているところもあり、線虫のゲノムをシーケンシングして変異部位の同定を行なうとすると安ければ3000ドルでできるという話を聞きました。

ところで、この数年の線虫における神経活動のイメージング技術の進歩はめざましく、複数の論文が発表されています。この技術により線虫のシンプルな神経回路での情報の流れを実際に追うことが可能となり、これまでの分子遺伝学的な知見を背景に、神経機能の全く新しいレベルでの理解が近い将来可能になると期待されています。本新学術領域研究でも線虫の神経活動のイメージングは大きな課題ですが、意外なことに、この学会では神経活動のイメージング技術を用いた発表はそれほど多くありませんでした。めぼしい発表もASHなどの特定の感覚神

経についてのもので、学会参加前に想像していたよりも広がりには欠けていました。一方でイメージング技術のワークショップは盛況で、各ラボで導入の意欲は高くても実際にはなかなか難しい状況にあることがうかがえました。知り合いの研究者同士でも「このインジケーターをこのプロモーターで発現させたがうまくライン化できなかった」などのやりとりが聞かれ、安定した技術となるまでにはもうしばらく試行錯誤が必要な時期なのかもしれない。明るい話題としてはオレゴン大学のShawn Lockeryと昼食をとる機会があったとき、動いている虫をトラッキングしながらFRET解析をすることが可能な顕微鏡を開発していると楽しそうに話していたのが印象に残っています。

今回の学会の目玉の一つは、Martin Chalfieのノーベル賞受賞記念講演でしたが、会場は満杯で大変な盛り上がりでした。Chalfieの決して優等生とはいえない人柄が往年のラボメンバーによって紹介されたあと、彼自身のユーモアあふれる講演がありました。内容は飾らず非常にシンプルで、GFPを使うことを思いついたいきさつ、当時、複数の研究室がGFPをモデル生物で発現しようと試みておりちょっとした違いでChalfieのラボのみが成功したこと、ノーベル賞受賞についても、同時に受賞した下村氏の経歴と努力を感動を込めて語り、最後に、「私の受賞は、科学というものが誰かの業績のうえに次の誰かの業績が積み重なって初めて進むものであることを示す良い例だ。」とまとめました。聴衆は彼の謙虚な話しぶりに長い拍手を送り続け、Chalfieが少し涙ぐんだ声で「さあ、次にうつろう」と言うまで続けました。会場を出るとテキサス大のLeon Averyに会いましたが、Chalfieの講演の間は寝ていたそうで、「あいつの話はもう何回も聞いているよ」とぼやいていたのがいつも辛口のコメントが冴えるAveryらしくて、ちょっと面白かったです。

思いつくままに書き連ねたので、予定よりもだいぶ長くなってしまいました。個々の発表には面白かったものもたくさんあったのですが、ここではまとめきれませんでした。特に、いくつかの日本からの口頭やポスター発表にレベルの高いものがあり、今後の展開が楽しみであったことを追記しておきます。



若手研究者海外派遣報告

第39回北米神経科学学会

水野 秀信

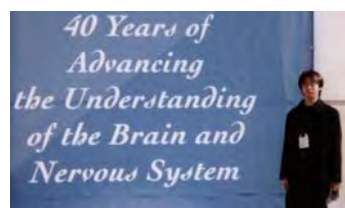
国立遺伝学研究所 形質遺伝研究部門 岩里研究室

北米神経科学学会は毎年2~3万人の神経科学者が参加する世界で最も大きな神経科学系の学会です。今回の学会の大きなテーマの一つは、記憶と学習の分子メカニズム解明に貢献しノーベル賞を受賞したエリック・カンデル博士の特別講演をはじめ、大脳皮質嗅内野で位置情報をコードしているグリッド細胞の発見者であるモーザー博士や、マウスの記憶を定量的に解析するためのモリス水迷路装置の考案者であるモリス博士などの講演などがあり、記憶と学習のメカニズムであったように感じました。また近年発展の目覚ましい、オプトジェネティクス(光で神経活動を操作する技術)関連の研究では、複数の波長の光で神経活動を亢進または抑制する技術が報告され、海外の研究進展の速さを感じました。

今回の学会は、岩里研究室での研究テーマである、大脳皮質バレル形成の分子細胞メカニズム解明のための情報収集を目的として、参加させていただきました。げっ歯類では外界情報の多くをヒゲからの体性感覚に頼っており、ヒゲからの神経入力は大脳バレル皮質内のバレルという特徴的な神経回路で情報処理されます。私は、バレルの個々の神経細胞を *in vivo* でイメー

ジングし、バレル形成の分子細胞メカニズムを調べることで、大脳皮質の神経回路がどのように形成されるかを明らかにすることを目指しています。学会ではこれらの研究に必要な神経細胞可視化法および *in vivo* イメージング技術についての先端的な情報を得ることができました。また、以前所属していた京都大学大学院理学研究科の卒業生の方々と直接話す機会を得ることができ、現在のアメリカでの研究状況を肌で感じることもできたこと、これからの研究方針を考える上でとても参考になりました。

今回、北米神経科学学会へ参加し情報収集をするための援助を頂いた、新学術領域研究、神経系の動作原理を明らかにするためのシステム分子行動学の研究代表者である、東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻の飯野雄一教授に深く感謝致します。また、派遣プログラムを円滑に進めるためにご協力いただいた多くのみなさまに御礼申し上げます。



若手研究者海外派遣報告

アメリカ合衆国国立衛生研究所
マーク・ストップファー研究室

宮崎 隆明

東京大学大学院分子細胞生物学研究所

伊藤(啓)研究室

アメリカ合衆国国立衛生研究所(NIH)は、世界最大の医学・生物学研究機関ともいわれ、ワシントンDC近郊のベセスダにあります。マーク・ストップファー(Mark A. Stopfer)博士はここで、昆虫をモデルとし、電気生理学的手法を用いて嗅覚神経系の研究を行い、時間的な神経活動が匂い情報の符号化に重要なことを示されてきました。現在の神経系研究の流れとして、複数の感覚入力の統合や、感覚系と運動神経との接続の解析がありますが、このために伊藤(啓)研究室で開発されたLexAエンハンサートラップ法が有用であるということで、今回セミナーをさせて頂きました。

LexAとGAL4の2種類の転写系を組み合わせることで、キイロショウジョウバエにおいて独立に異なる種類の外来遺伝子の発現を誘導できます。これを用いて2種類の神経細胞(例えば感覚神経と運動神経)を同時に可視化し、それらの回路がどのように接続しているかを理解できます。私はこの手法を味覚系に適用し、その高次神経回路を解析するプロジェクトについてお話いたしました。セミナーには同じ建物でハエの神経系を扱っている李奇宏(Chi-Hon Lee)博士やベンジャミン・ホワイト(Benjamin H. White)博士などの研究室の方々も出席され、活発な質問も頂くことができ、有意義なものとなりました。特に、羽

化時の行動を制御する神経を解析なさっているホワイト博士とは、その神経と他の神経の接続の解析にLexAを応用することについて深く議論できました。このような研究室間の交流の多さは、今後、高次神経回路を多面的に解析していく上で重要なもので、見習うべき点であると感じました。

今回一つ失敗してしまったのは、出発日の朝に駅へ行くと、駅が閉まっていたことです。ワシントンDCの地下鉄は、土日は朝7時から営業とのことで、なんとか8時発の飛行機には間に合いましたが、海外出張では交通機関等の入念な事前調査が必要であることを痛感いたしました。

末筆になりましたが、今回、NIHへのセミナーに対して援助を頂いた、新学術領域研究『神経系の動作原理を明らかにするためのシステム分子行動学』の研究代表者である、東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻の飯野雄一先生に深く感謝いたします。また、派遣プログラムを円滑に進めるためにご協力いただいた多くの皆様に御礼申し上げます。

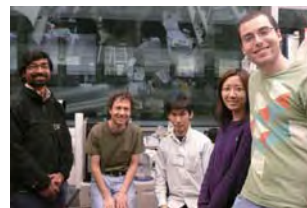


写真 ストップファー博士(左から2人目)、研究室の皆さんと本人(左から3人目)

班会議およびワークショップ開催

2009年11月18日-20日の日程で静岡県掛川市ヤマハリゾートつま恋を会場に第1回の班会議およびワークショップを開催した。総勢70名強の参加を得て、全班員が口頭発表を行うとともに、ポスターセッションで議論、情報交換に夜遅くまで時間を過ごした。ワークショップは班員以外にDr. Sam Kunes (Harvard University)とDr. Mario de Bono (MRC)を御招きして、航空機の遅延やパソコンのトラブルに見舞われながらも、それぞれ、ショウジョウバエの長期記憶におけるRNAiおよび線虫の酸素感覚と社会性行動について無事に講演していただいた。分子、神経回路、行動を一貫して明らかにしたいという興味を共有しながら、研究材料も解析する系も多岐に渡っている研究発表を集中的に聞く事ができ、得るものがとても大きかった。第一回ということもあり、初めて顔を合わせるメンバーも多かったが、様々な意見、情報の交換を通じた交流により研究のネットワークが広がったと思う。次回の班会議は国際シンポジウムを東京大学で開催することもあり、2010年11月8-9日の間、東京で開催予定である。



班会議風景



Dr. Sam Kunes



Dr. Mario de Bono

平成22年度国際シンポジウム

日時：平成22年11月10日(水)

場所：東京大学理学部1号館小柴ホール
(本郷キャンパス)

また同時に班会議も開催致します。

詳細は随時ホームページにてお知らせしております。

参画研究室一覧

計画研究		
研究代表者	所属	研究課題名
飯野 雄一	東京大学大学院理学系研究科	化学走性行動と連合学習の分子神経機構の解明
石原 健	九州大学大学院理学研究院	神経回路における感覚情報処理の制御機構の解明
新貝 柳蔵	岩手大学工学部	複数感覚入力に対する行動選択の神経回路
多羽田 哲也	東京大学分子細胞生物学研究所	ショウジョウバエの記憶形成回路の構造および機能発現の分子基盤
齋藤 実	東京都神経科学総合研究所	学習記憶とその障害の遺伝子経路解明と動態解析
東島 眞一	岡崎統合バイオサイエンスセンター	ゼブラフィッシュを用いた、脊椎動物脊髄運動系神経回路の動作原理の解明
佐藤 守俊	東京大学大学院総合文化研究科	モデル小動物イメージングのための新しい遺伝子コード型プローブの開発
増田 直紀	東京大学大学院情報理工学系研究科	移動運動と学習記憶の確率モデルによる数理解析
辻 敏夫	広島大学大学院工学研究科	生物行動のシステム工学的解釈と バイオメティック・センサ・システムの提案

公募研究		
研究代表者	所属	研究課題名
和多 和宏	北海道大学・大学院先端生命科学研究院	ソングバードを用いた時空間制御を与える遺伝子発現系の開発と行動実験への応用
橋本 浩一	東北大学・大学院情報科学研究科	運動する生物のロバスト追跡と蛍光画像解析
古久保- 徳永 克男	筑波大学・大学院生命環境科学研究科	ショウジョウバエをモデルとする報酬記憶の分子行動学
中井 淳一	埼玉大学・脳科学融合研究センター	ゼブラフィッシュの覚醒・睡眠の分子機構に関する研究
小早川 高	大阪バイオサイエンス研究所	哺乳類の匂いに対する多様な情動を制御する神経回路の解明
久保 健雄	東京大学・大学院理学系研究科	ミツバチの視覚情報処理を支える脳のモジュール構造の分子構築の解析
富田 太郎	東京大学・医科学研究所	MAPKリン酸化シグナルのイメージングによる線虫の環境応答行動の研究
伊藤 啓	東京大学・分子細胞生物学研究所	ショウジョウバエの脳から胸腹部神経節へ投射する行動制御神経のシステム解析
木村 幸太郎	大阪大学・大学院理学研究科	線虫C.elegans行動制御・解析システムの開発
筒井 秀和	大阪大学・大学院医学系研究科	膜電位の高精細in vivoマッピングに向けた基盤技術開発
尾崎 まみこ	神戸大学・大学院理学研究科	生得的および経験的な食嗜好の形成・個体行動・神経・分子の視点から
谷村 禎一	九州大学・大学院理学研究院	ショウジョウバエのアミノ酸味覚受容と摂食行動可塑性の行動分子遺伝学
齋藤 和也	熊本大学・大学院生命科学研究部	ゼブラフィッシュ摘出脳脊髄標本を利用した眼球運動とロコモーションの統合機構の解明
坂井 貴臣	首都大学東京・大学院理工学研究科	ショウジョウバエの長期記憶にかかわる脳内経路と動作原理の解明
上川内 あづさ	東京薬科大学・生命科学部	ショウジョウバエの聴覚行動を制御する神経回路基盤の解明
松尾 直毅	藤田保健衛生大学(4月以降 京都大学)	記憶の形成と想起に関する神経回路の可視化と解析
中村 加枝	関西医科大学・医学部	快と不快による行動決定の学習機構
児島 将康	久留米大学・分子生命科学研究科	モデル生物の行動を制御する未知の神経ペプチド探索と機能解析
岩里 琢治	国立遺伝学研究所・形質遺伝研究部門	野生型および変異マウスにおけるバレル回路形成素過程の解析
吉原 良浩	理化学研究所・脳科学総合研究センター	「好き・嫌い・記憶」を制御するゼブラフィッシュ嗅覚神経系のシステム分子行動学
岡本 仁	理化学研究所・脳科学総合研究センター	ゼブラフィッシュの手綱核による恐怖行動制御
戸井 基道	産業技術総合研究所・脳神経情報研究部門	シナプス接続とシナプス小胞放出の可視化による機能的神経回路網の解明



業績一覧

飯野 雄一

【原著論文】

- Y amada, K., Hirotsu, T., Matsuki, M., Kunitomo, H., and [Iino, Y.](#) (2009) GPC-1, a G protein gamma-subunit, regulates olfactory adaptation in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 181, 1347-1357
- [Iino, Y.](#), Yoshida, K. (2009) Parallel use of two behavioral mechanisms for chemotaxis in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Neuroscience* 29, 5370-5380
- Ortiz, C.O., Faumont, S., Takayama, J., Ahmed, H.K., Goldsmith, A.D., Pocock, R., McCormick, K.E., Kunitomo, H., [Iino, Y.](#), Lockery, S., Hobert, O. (2009) Lateralized gustatory behavior of *C. elegans* is controlled by specific receptor-type guanylyl cyclases. *Current Biology* 19, 996-1004
- Hayashi, Y., Hirotsu, T., Iwata, R., Kage-Nakadai, E., Kunitomo, H., Ishihara, T., [Iino, Y.](#), and Kubo, T. (2009) A trophic role for Wnt-Ror kinase signaling during developmental pruning in *Caenorhabditis elegans*. *Nature Neuroscience* 12, 981-987
- Takayama, J., Faumont, S., Kunitomo, H., Lockery, S.R., and [Iino, Y.](#) (2009) Single-cell transcriptional analysis of taste sensory neuron pair in *Caenorhabditis elegans*. *Nucleic Acids Research* 38, 131-142

石原 健

【原著論文】

- Oishi, A., Gengyo-Ando, K., Mitani, S., Mohri-Shiomi, A., Kimura, K.D., [Ishihara, T.](#), and Katsura, I. (2009) FLR-2, the glycoprotein hormone alpha subunit, is involved in the neural control of intestinal functions in *Caenorhabditis elegans*. *Genes to Cells*. 14, 1141-54.
- Hayashi, Y., Hirotsu, T., Iwata, R., Kage-Nakadai, E., Kunitomo, H., [Ishihara, T.](#), Iino, Y., and Kubo, T. (2009) A trophic role for Wnt-Ror kinase signaling during developmental pruning in *Caenorhabditis elegans*. *Nature Neuroscience*. 12, 981-987

【学会発表】

- Shinkai, Y., and [Ishihara, T.](#) (2009) Molecular analysis of the integration of two sensory signals in *C. elegans*. 17th International *C. elegans* Meeting. 604 A
- Fujiwara, M., Sato, N., Maruyama, S., Akamine, T., and [Ishihara, T.](#) (2009) Chemotactic control by a germline signal in *C. elegans*. 17th International *C. elegans* Meeting. 568A.
- Shinkai, Y., Tsunozaki, M., Bargmann, C., [Ishihara, T.](#) (2010) Molecular analyses of the integration of two sensory signals. Cold Spring Harbor Meeting "Neural Circuits"

新貝 柳蔵

【原著論文】

- [Wakabayashi, T.](#), Kimura, Y., Ohba, Y., Adachi, R., Satoh, Y., and [Shingai, R.](#) (2009) *In vivo* calcium imaging of OFF-responding ASK neurons in *C. elegans*. *BBA Gen. Subj.* 1790, 765-769.
- Adachi, R., Osada, H., *[Shingai, R.](#) (2008) Phase-dependent preference of thermosensation and chemosensation during simultaneous presentation assay in *Caenorhabditis elegans*. *BMC Neurosci.* 9, 106 (<http://biomedcentral.com/1471-2202/9/106>).
- Matsuoka, T., Gomi, S., *[Shingai, R.](#) (2008) Simulation of *C. elegans* thermotactic behavior in a linear thermal gradient using a simple phenomenological motility model. *J. Theor. Biol.* 250, 230-243.

【学会発表】

- [Iwasaki, Y.](#) (2009). Analysis of noise robustness in neural circuit of *C. elegans*, 17th International *C. elegans* Meeting, 543C, 2009/6/24-28, Los Angeles, CA, USA.
- [Wakabayashi, T.](#), Togashi, T., [Shingai, R.](#) (2009) Behavioral decision-making during acidic pH avoidance in *C. elegans*. 17th International *C. elegans* Meeting, 536B, 2009/6/24-28, Los Angeles, CA, USA.

多羽田 哲也

【原著論文】

- Murakami, S., Dan, C., Zagaeski, B., Maeyama, Y., Kunes, S. and [Tabata, T.](#) (2010). Optimizing *Drosophila* Olfactory Learning with a Semi-automated Training Device. *Journal of Neuroscience Methods*. Available online 12 February 2010.

【学会発表】

- [Tabata, T.](#) (2009). Spatio-temporal regulation of DER and Notch signaling pathways organizes the proneural wave progression in medulla neuroblast development. *Neurobiology of Drosophila*, Cold Spring Harbor Laboratory.
- [Tabata, T.](#) (2010). Cellular and molecular mechanisms underlying neural formation in *Drosophila* visual system development. International Symposium on *Drosophila* Bio-Resource: - Pioneering life science research with *Drosophila* Genetic Resources -, Kyoto

齊藤 実

【原著論文】

- Matsuno, M., Horiuchi, J., Tully, T., and [Saitoe, M.](#) (2009). The *Drosophila* cell adhesion molecule klingle is required for long-term memory formation and is regulated by Notch. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106, 310-315.
- Horiuchi, J., Yamazaki, D., Naganos, S., Aigaki, T., and [Saitoe, M.](#) (2008). Protein kinase A inhibits a consolidated form of memory in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105, 20976-20981.
- Yamazaki, D., and [Saitoe, M.](#) (2008). [cAMP/PKA signaling underlies age-related memory impairment]. *Brain Nerve* 60, 717-724.

【総説】

- 上野耕平, [齊藤 実](#) (2010) 記憶学習の精緻な理解に向けてのモデル動物:ハエ 生体の科学 61, 17-23.
- [齊藤 実](#) (2008). 学習記憶を担う生化学的情報伝達系のシグナル伝達による解析 細胞工學 27, 1118-1124

東島 真一

【原著論文】

- Sugiyama, M., Sakae-Sawano, A., Iimura, T., Fukami, K., Kitaguchi, T., Kawakami, K., Okamoto, H., [Higashijima, S.](#), and Miyawaki, A. (2009). Illuminating Cell-Cycle Progression in the Developing Zebrafish Embryo. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 106, 20812-20817.
- Satou, C., Kimura, Y., Kohashi, T., Horikawa, K., Takeda, H., Oda, Y., and [Higashijima, S.](#) (2009). Functional role of a specialized class of spinal commissural inhibitory neurons during fast escapes in zebrafish. *J. Neuroscience* 29, 6780-6793.
- Bae, Y., Kani, S., Shimizu, T., Tanabe, K., Nojima, H., Kimura, Y., [Higashijima, S.](#), and Hibi, M. (2009). Anatomy of zebrafish cerebellum and screen for mutations affecting its development. *Developmental Biology* 300, 406-426.
- Miyasaka, N., Morimoto, K., Tsubokawa, T., [Higashijima, S.](#), Okamoto, H., and Yoshihara, Y. (2009). From the Olfactory Bulb to Higher Brain Centers: Genetic Visualization of Secondary Olfactory Pathways in Zebrafish. *J. Neuroscience* 29, 4756-4767.
- Vitorino, M., Jusf, P.R., Maurus, D., Kimura, Y., [Higashijima, S.](#), and Harris, W.A. (2009). Vsx2 in the zebrafish retina: restricted lineages through depression. *Neural Development* 4, 14.

佐藤 守俊

【原著論文】

- Kim, S. B., [Sato, M.](#), and Tao, H. (2009). A Split Gaussia Luciferase-Based Bioluminescence Template for Tracing Protein Dynamics in Living Cells. *Anal. Chem.* 81, 67-74.
- Kim, S. B., [Sato, M.](#), and Tao, H. (2009). Genetically Encoded Bioluminescent Indicators for Stress Hormones. *Anal. Chem.* 81, 3760-3768.
- Kim, S. B., [Sato, M.](#), and Tao, H. (2009). Molecular Tension-Indexed Bioluminescent Probes for Determining Protein-Protein Interactions. *Bioconjugate Chem.* 20, 2324-2330.
- [Sato, M.](#) (2009). Imaging molecular processes in living cells. *Janelia Farm Conference on Fluorescent Proteins and Biological Sensors II*.

【総説】

- [佐藤守俊](#) (2009). バイオイメージング:「いきもの不思議」に画像で迫る. 遺伝 1月号, p59-63.

増田 直紀

【原著論文】

- [Masuda, N.](#), Kawamura, Y., and Kori, H. (2009). Impact of hierarchical modular structure on ranking of individual nodes in directed networks. *New J. Phys.* 11, 113002.
- [Masuda, N.](#), Kawamura, Y., and Kori, H. (2009). Analysis of relative influence of nodes in directed networks. *Phys. Rev. E* 80, 046114 (2009).
- [Ohkubo, J.](#) (2009). Posterior probability and fluctuation theorem in stochastic processes. *J. Phys. Soc. Jpn.* 78, 123001.
- [Ohkubo, J.](#) (2008). The stochastic pump current and the non-adiabatic geometrical phase. *J. Stat. Mech.* P02011.

辻 敏夫

【原著論文】

- [Suzuki, M.](#), Sakashita, T., Yanase, S., Kikuchi, M., Ohba, H., Higashitani, A., Hamada, N., Funayama, T., Fukamoto, K., [Tsujii, T.](#), and Kobayashi, Y. (2009) Effects of ionizing radiation on locomotory behavior and mechanosensation in *Caenorhabditis elegans*. *J. Radiat. Res.*, 50, 119-125.
- [Tsujii, T.](#), [Suzuki, M.](#), [Takiguchi, N.](#), and Ohtake, H. (2010) Biomimetic control based on a model of chemotaxis in *Escherichia coli*. *Artificial Life*, 16 (in press).
- Soh, Z., [Tsujii, T.](#), [Takiguchi, N.](#), and Ohtake, H. (2010) Neuro-based olfactory model for artificial organoleptic tests. *Artificial Life and Robotics*, 14 (in press).
- Terawaki, M., Hirano, A., Soh Z., and [Tsujii, T.](#) (2010) Unconstrained and noninvasive measurement of bioelectric signals from small fish. *Artificial Life and Robotics*, 14 (in press).

【総説】

- [辻敏夫](#), 鈴木芳代, 曾智, 寺脇亮, 瀧口昇, 大竹 久夫 (2010) 生物行動のシステム論的解釈と工学応用 -線虫、ラット、メダカを手掛かりとして-. ソフトウェアバイオロジー, 9 (in press).

和多 和宏

【原著論文】

- Liu, W.C., [Wada, K.](#), Nottebohm, F. (2009). Variable food begging calls are harbingers of vocal learning. *PLoS ONE*. 16, e5929.
- Kubikova, L., [Wada, K.](#), Jarvis, E.D. (2010). Dopamine receptors in a songbird brain. *J. Comp. Neurol.* 518, 741-69.

【学会発表】

- 森千麻, [和多和宏](#) (2009年) Auditory deprivation affects gene expression in vocal related pathway in songbird 日本分子生物学会年会 3P-0696
- 今井礼夢, [和多和宏](#) (2009年) Multiple regulation of Egr family expression for vocal learning in songbird 日本分子生物学会年会 3P-0899
- 堀田悠人, Erich D Jarvis, 岡浩太郎, [和多和宏](#) (2009年) Immediate Early Gene *dusp1* is Regulated by Natural Behavior in the Primary Sensory Areas and Vocal Areas of Birds 日本分子生物学会年会 3P-0923



橋本 浩一

【原著論文】

- Oku, H., Ogawa, N., [Hashimoto, K.](#), and Ishikawa, M. (2005). Two-dimensional tracking of a motile microorganism allowing high-resolution observation with various imaging techniques. *Review of Scientific Instruments*, 76, 034301-1-9.
- Ogawa, N., Oku, H., [Hashimoto, K.](#), and Ishikawa, M. (2005). Microrobotic visual control of motile cells using high-speed tracking system. *IEEE Transactions of Robotics*, 21, 4, 704-712.
- Ogawa, N., Oku, H., [Hashimoto, K.](#), and Ishikawa, M. (2006). A physical model for galvanotaxis of paramecium cell. *Journal of Theoretical Biology*, 242, 2, 314-328.
- Fei, X., Igarashi, Y., Shinkai, M., Ishikawa, M., and [Hashimoto, K.](#) (2009). A Parallel Computation of the Region-Based Level Set Method for Boundary Detection with Moving Objects. *Journal of Robotics and Mechatronics*, 21, 698-708.

古久保 徳永 克男

【原著論文】

- Kurusu, M., Maruyama, Y., Adachi, Y., Okabe, M., Suzuki, E., and [Furukubo-Tokunaga, K.](#) (2009). A conserved nuclear receptor, Tailless, is required for efficient proliferation and prolonged maintenance of mushroom body progenitors in the *Drosophila* brain. *Dev. Biol.*, 326, 224-236.
- Wairkar, Y., Toda, H., Mochizuki, H., [Furukubo-Tokunaga, K.](#), Tomoda, T., and DiAntonio, A., (2009). Unc-51 controls active zone density and protein composition by downregulating ERK signaling. *J. Neurosci.*, 29, 517-528.
- Honjo, K., and [Furukubo-Tokunaga, K.](#) (2009). Distinctive neuronal networks and biochemical pathways for appetitive and aversive memory in *Drosophila* larvae. *J. Neurosci.*, 29, 852-862.

【総説】

- [Furukubo-Tokunaga, K.](#) (2009). Modeling schizophrenia in flies. in "Progress in Brain Research, Gene Models of Schizophrenia", ed. Akira Sawa. Elsevier, New York

【学会発表】

- Ando, T., Kondoh, K., Honjo, K., Mochizuki, H., Ando, M., Horigane, S., Takayama, K., Maruyama, Y., Shimoda, M., Kamiya, A., Ishida, N., Tomoda, T., Saitoe, M., Sawak, A., and [Furukubo-Tokunaga, K.](#) (2009). Modeling Schizophrenia In Flies: Direct Expression of A Schizophrenia Susceptibility Gene, DISC1, Impairs Arousal And Associative Learning In *Drosophila*. Cold Spring Harbor Meeting "Neurobiology of *Drosophila*", Cold Spring Harbor, New York, U.S.A.

中井 淳一

【原著論文】

- Shindo, A., Hara, Y., Yamamoto, T. S., Ohkura, M., [Nakaj, J.](#), Ueno, N. (2010) Tissue-Tissue Interaction-Triggered Calcium Elevation Is Required for Cell Polarization during *Xenopus* Gastrulation. *PLoS One*, 5, e8897.

【総説】

- 大倉正浩, [中井淳一](#) (2010) 新しい蛍光Ca²⁺センサー-G-CaMPを用いた生体Ca²⁺画像化. *生体の科学*61, 86-92.

【学会発表】

- Muto, A., [Nakaj, J.](#), Kawakami, K. (2009) Visualization of functional neural circuits using the GAL4-UAS system in zebrafish. *Japanese Neuroscience Society*, O3-13-4.
- Tanaka, M., [Nakaj, J.](#), Lebedinskiy, A., Gomi, H., Mikoshiba, K., Semyanov, A., Itohara, S. (2009) Reduced astrocytic IP3-mediated Ca²⁺ signaling results in behavioral abnormality in mice. *Japanese Neuroscience Society*, P2-C15.
- Usami, A., Ikegaya, Y., Matsuki, N., [Nakaj, J.](#) (2009) Improved genetically encoded fluorescent calcium sensor G-CaMP4. *Japanese Neuroscience Society*, P3-F16.

小早川 高

【原著論文】

- Imai T, Yamazaki T, Kobayakawa R, [Kobayakawa, K.](#) Abe T, Suzuki M, Sakano H. (2009). Pre-target axon sorting establishes the neural map topography. *Science (Article)* 325, 585-590

【総説】

- [小早川高](#), [小早川令子](#) (2009) 「マウスの匂いに対する先天的な情動や行動を制御する神経回路の発見」 *Aroma Research* 10, 82-88

- [小早川高](#), [小早川令子](#) (2010) 「哺乳類の匂いに対する情動を先天的に制御する神経回路の発見」 *医学のあゆみ* 232, 53-60

【学会発表】

- [Ko Kobayakawa](#), Reiko Kobayakawa (2009) Neural mechanisms to control odor evoked emotions and behaviors. 第32回日本分子生物学会年会(シンポジウム), 154-6

久保 健雄

【原著論文】

- Hayashi, Y. †, Hirotsu, T.*, Iwata, R.*, Kage-Nakadai, E., Kunitomo, H., Ishihara, T., Iino, Y., and [Kubo, T.](#) (2009). A trophic role for Wnt-Ror kinase signaling during developmental pruning in *Caenorhabditis elegans*. *Nat. Neurosci.* 12, 981-987. *: equal contribution, †: corresponding author.

- Tadano, H., Yamazaki, Y., Takeuchi, H. †, and [Kubo, T.](#) (2009) Differential expression associated with age-dependent division of labor and neural subtype-specific expression of a novel non-coding RNA, Nb-1, in the honeybee (*Apis mellifera* L.) worker brain. *Insect Mol. Biol.* 18, 715-726. †: corresponding author.

- Kiya, T. † and [Kubo, T.](#) (2010) Analysis of GABAergic and non-GABAergic neuron activity in the optic lobes of the forager and re-orienting worker honeybee (*Apis mellifera* L.). *PLoS ONE* 5(1):e8833, doi:10.1371. †: corresponding author.

- Hori, S.* †, Kaneko K.*, Saito, T., Takeuchi, H. and [Kubo, T.](#) (2010) Expression of two microRNAs, ame-mir-276 and -1000, in the adult honeybee (*Apis mellifera* L.) brain. *Apidologie* in press. *: equal contribution, †: corresponding author.

- Kaneko, K., Hori, S.*, Morimoto, M. M.*, Nakaoka, T., Paul, R. K., Fujuyuki, T., Shirai, K., Wakamoto, K., Tsuboko, S., Takeuchi, H. and [Kubo, T.](#) (2010) *In situ* hybridization analysis of the expression of *futsch*, *tau*, and *MESK2* homologues in the brain of the European honeybee (*Apis mellifera* L.). *PLoS ONE* 5(2):e9213, doi:10.1371. †: equal contribution.

富田 太一郎

【原著論文】

- [Tomida, T.](#), Takekawa, M., O'Grady, P., Saito, H. (2009). Stimulus-specific distinctions in spatial and temporal dynamics of stress-activated protein kinase kinases revealed by a fluorescence resonance energy transfer biosensor. *Mol. Cell. Biol.* 22, 6117-6127.

【学会発表】

- [Tomida, T.](#), Takekawa, M., O'Grady, P., Saito, H. (2010). Spatio-temporal dynamics of stress-activated MAP3K activity revealed by a novel FRET biosensor. *Biophysical Society 54 th Annual Meeting*. L-336.

伊藤 啓

【原著論文】

- Tanaka, N. K., [Ito, K.](#), and Stopfer, M. (2009). Odor-evoked neural oscillations in *Drosophila* are mediated by widely branching interneurons. *J Neurosci* 29, 8595-8603.

- Inagaki, H. K., Kamikouchi, A., and [Ito, K.](#) (2010). Protocol for quantifying sound-sensing ability of *Drosophila melanogaster*. *Nat Protoc* 5, 26-30.

- Inagaki, H. K., Kamikouchi, A., and [Ito, K.](#) (2010). Methods for quantifying simple gravity sensing in *Drosophila melanogaster*. *Nat Protoc* 5, 20-25.

- Schnell, B., Joesch, M., Foerster, F., Raghu, S. V., Otsuna, H., [Ito, K.](#), Borst, A., and Reiff, D. F. (2010). Processing of Horizontal Optic Flow in Three Visual Interneurons of the *Drosophila* Brain. *J Neurophysiol.* (Epub ahead of print)

- Okada, R., Awasaki, T., and [Ito, K.](#) (2009). Gamma-aminobutyric acid (GABA)-mediated neural connections in the *Drosophila* antennal lobe. *J Comp Neurol* 514, 74-91.

木村 幸太郎

【原著論文】

- Kuhara, A., Okumura, M., Kimata, T., Tanizawa, Y., Takano, R., [Kimura, K.D.](#), Inada, H., Matsumoto, K., Mori, I. (2008). Temperature sensing by an olfactory neuron in a circuit controlling behavior of *C. elegans*. *Science* 320, 803-807.

【学会発表】

- [木村幸太郎](#) (2009). Enhancement of odor avoidance is regulated by dopamine signaling in the nematode *C. elegans*. 第7回国際シンポジウム-味覚嗅覚の分子神経機構

筒井 秀和

【原著論文】

- [Tsutsui, H.](#), Shimizu, H., Mizuno, H., Nukina, N., Furuta, T., and Miyawaki, A. (2009) The E1 mechanism in photo-induced beta-elimination reactions for green-to-red conversion of fluorescent proteins. *Chem Biol.* 16, 1140-1147.

- Shimozono, S., [Tsutsui, H.](#), Miyawaki, A. (2009) Diffusion of large molecules into assembling nuclei revealed using an optical highlighting technique. *Biophys J.* 97, 1288-1294.

尾崎 まみこ

【原著論文】

- Quyang, Q., Sato, H., Murata, Y., Nakamura, A., [Ozaki, M.](#), and Nakamura, T. (2009). Contribution of the inositol 1,4,5-trisphosphate transduction cascade to the detection of "bitter" compounds in the blowflies. *Comp. Biochem. Physiol.* 135, 309-316.

- Fujikawa, K., Takahashi, A., Nishimura, A., [Ozaki, M.](#), Itoh, M. and Toshiyuki, T. (2009). Characteristics of genes up-regulated and down-regulated after 24 h starvation in the head of *Drosophila*. *Gene* 446, 11-17.

- [Ozaki, M.](#), and Nakamura, T. (2009). Chemosensory regulation of feeding in the blowfly: Several studies after The Hungry Fly. In *Insect Taste* (Ed. by P. Neuland) pp.77-101, Taylor and Francis Group, Milton Park Abingdon, UK.

- [Ozaki, M.](#), and Wada-Katsumata, A. (2010). Perception and olfaction of cuticular compounds. In *Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry and Chemical Ecology* (Eds. By Gray J. Bloomquist and Anne Genevievè Bagnères) pp.205-221, Cambridge University Press.

【学会発表】

- 平口鉄太郎, 前田徹, 西村知良, [尾崎まみこ](#) (2009) 副嗅覚情報による摂食行動発現率の制御 第34回日本比較生理生化学会 PP37

谷村 禎一

【原著論文】

- Fuchikawa, T., Sanada, S., Nishio, R., Matsumoto, A., Matsuyama, T., Yamagishi, M., Tomioka, K., [Tanimura, T.](#), and Miyatake T. (2009). The clock gene cryptochrome of *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) in strains with different mating times. *Heredity* (advance online publication 16 December 2009)



【学会発表】

- [Teiichi Tanimura](#) (2009) Gustation, Nutrition and Learning in *Drosophila*. Japan Neuroscience 2009 meeting (16-18 September), Symposium: Sensory Systems and Neural Circuits in *Drosophila*.
- 甫守 佑介, [谷村 謙](#) (2009) ショウジョウバエのアミノ酸摂取応答の行動解析 日本味と匂学会第43回大会P-048
- 西 佳奈恵, [谷村 謙](#) (2009) ショウジョウバエの摂食行動の匂いによる増強効果 日本味と匂学会第43回大会 P-049

齊藤 和也

【学会発表】

- [Saitoh K](#), Nishimura M, Song W-J (2009) Frequency- and level- dependent detectable change of auditory response pattern in the cortex. 第36回国際生理学学会 (P4AM-16-10)
- [Saitoh K](#), Nishimura M, Song W-J (2009) Mutual information between acoustic stimuli and optical signals in the primary auditory cortex. 第32回日本神経科学学会(P3-b36)

坂井 貴臣

【原著論文】

- [Sakai T](#), Kasuya, J, Kitamoto, T., and Aigaki, T. (2009). The *Drosophila* TRPA channel, Painless, regulates sexual receptivity in virgin females. *Genes, Brain and Behavior* 8, 546-557.
- Ishimoto, H., [Sakai T](#), and Kitamoto, T. (2009). Ecdysone signaling regulates courtship long-term memory formation in adult *Drosophila melanogaster*. *PNAS*. 106, 6381-6386.

【学会発表】

- [Sakai T](#) (2009) Functional analysis of *Drosophila* homologs of schizophrenia-associated genes. 第32回日本分子生物学会、発表番号1W13-4
- [坂井貴臣](#), 宇井勇太, 相垣敏郎 (2009) ショウジョウバエのLIMドメインボックス遺伝子 *apterous* は長期記憶に必要である 第32回日本神経科学大会 発表番号P2-m15

上川内 あづさ

【原著論文】

- Inagaki, H.K., [Kamikouchi A](#), Ito, K. (2010). Methods for quantifying simple gravity sensing in *Drosophila melanogaster*. *Nat. Protoc.* 5, 20-25.
- Inagaki HK, [Kamikouchi A](#), Ito K. (2010). Protocol for quantifying sound-sensing ability of *Drosophila melanogaster*. *Nat. Protoc.* 5, 26-30.
- [Kamikouchi A](#), Albert, J.T. and Göpfert, M.C. (2010). Mechanical feedback amplification in *Drosophila* hearing is independent of synaptic transmission. *Eur. J. Neurosci.* 31, 697-703.

【総説】

- [上川内あづさ](#), 稲垣秀彦, 萬涼子, 伊藤啓 (2009) 「解剖学・生理学・行動学の統合的解析モデルとしてのショウジョウバエを利用した音・重力・風情報の脳内処理機構の解明 Application of *Drosophila* as an integrative neural model to understand how sound, gravity, and wind information are processed in the brain」蛋白質核酸酵素 共立出版 54(14), 1817-1826.
- [上川内あづさ](#), 稲垣秀彦, 伊藤啓 (2009) 「ショウジョウバエにおける音、重力、風検知の神経基盤 The neural mechanism underlying sound, gravity and wind senses in *Drosophila*」実験医学 羊土社 27(13), 2105-2108.

松尾 直毅

【原著論文】

- [Matsuo N](#), Yamasaki, N., Ohira, K., Takao, K., Toyama, K., Eguchi, M., Yamaguchi, S., and Miyakawa, T. (2009). Neural activity changes underlying the working memory deficit in alpha-CaMKII heterozygous knockout mice. *Front. Behav. Neurosci.* 3:20.
- Tanda, K., Nishi, A., [Matsuo N](#), Nakanishi, K., Yamasaki, N., Sugimoto, T., Toyama, K., Takao, K., and Miyakawa, T. (2009). Abnormal social behavior, hyperactivity, impaired remote spatial memory, and increased D1-mediated dopaminergic signaling in neuronal nitric oxide synthase knockout mice. *Mol. Brain* 2(1):19.
- [Matsuo N](#), Tanda, K., Nakanishi, K., Yamasaki, N., Toyama, K., Takao, K., Takeshima, H., and Miyakawa, T. (2009). Comprehensive behavioral phenotyping of ryanodine receptor type3 (RyR3) knockout mice: Decreased social contact duration in two social interaction tests. *Front. Behav. Neurosci.* 3:3.

【学会発表】

- [Matsuo N](#) (2009). Genetic visualization of memory in mice. 第32回日本神経科学大会 シンポジウム, SY3-D2-5

中村 加枝

【原著論文】

- Bromberg-Martin, E.S., Hikosaka, O. and [Nakamura K](#) (2010). Coding of task reward value in the dorsal raphe nucleus. *J Neurosci.* in press

【学会発表】

- Nakao, K., Matsuzaki, R., Noritake, A., Okada, O., Kobayashi, Y., [Nakamura K](#) (2009) Positive and negative value coding in the primate dorsal raphe nucleus Society for Neuroscience Meeting, 683.13
- Matsuzaki, R., Nakao, [Nakamura K](#) (2009) Reward-dependent modulation of neuronal activity in the primate ventral striatum. サル腹側線条体ニューロンの報酬情報処理機構 日本神経科学会 P1 J04
- Nakao, K., Matsuzaki, R., Okada, O., Kobayashi, Y., Nakamura, K. (2009) Reward coding by the primate dorsal raphe neurons is context dependent. サル背側線条核における遅延をともった報酬の情報処理 日本神経科学会 P1 J03
- [中村加枝](#) (2009) ドパミンとセロトニンによる報酬獲得行動の制御のメカニズム 第27回頭頸部自律神経研究会 (招待講演)

児島 将康

【原著論文】

- [Kojima M](#), Kangawa K.(2009) Ghrelin: From Gene to Physiological Function. *Results Probl Cell Differ.*(in press).
- Takahashi T, Ida T, Sato T, Nakashima Y, Nakamura Y, Tsuji A, [Kojima M](#).(2009) Production of n-octanoyl-modified ghrelin in cultured cells requires prohormone processing protease and ghrelin O-acyltransferase, as well as n-octanoic acid. *J Biochem.* 146,675-82.
- Ohgusu H, Shirozu K, Nakamura Y, Nakashima Y, Ida T, Sato T, [Kojima M](#).(2009) Ghrelin O-acyltransferase (GOAT) has a preference for n-hexanoyl-CoA over n-octanoyl-CoA as an acyl donor. *Biochem Biophys Res Commun.* 386,153-8.
- Hiejima H, Nishi Y, Hosoda H, Yoh J, Mifune H, Satou M, Sugimoto H, Chiba S, Kawahara Y, Tanaka E, Yoshimatsu U, Uchimura N, Kangawa K, [Kojima M](#).(2009) Regional distribution and the dynamics of n-decanoyl ghrelin, another acyl-form of ghrelin, upon fasting in rodents. *Regul Pept.* 156,47-56.

【学会発表】

- [児島将康](#) (2009) 摂食亢進ホルモン・グレリンの欠損マウスの表現型について、第82回日本生化学会大会、157a-2

岩里 琢治

【原著論文】

- Singer, P., Yee, B.K., Feldon, J., [Iwasato T](#), Itohara, S., Grampp, T., Prenosil, G., Benke, D., Mohler, H., Boison, D. (2009). Altered mnemonic functions and resistance to NMDA receptor antagonism by forebrain conditional knockout of glycine transporter 1. *Neuroscience* 161, 635-54.
- Takeuchi, S., Yamaki, N., [Iwasato T](#), Negishi, M., Katoh, H. (2009). β 2-chimaerin binds to EphA receptors and regulates cell migration. *FEBS Letters* 583, 1237-1242.
- Tanabe, Y., Hirano, A., [Iwasato T](#), Itohara, S., Araki, K., Yamaguchi, T., Ichikawa, T., Kumanishi, T., Aizawa, Y., Takahashi, H., Kakita, A., Nawa, H. (2010). Molecular characterization and gene disruption of a novel zinc-finger protein, HIT-4, expressed in rodent brain. *J. Neurochem.* 112:1035-44.

【総説】

- [岩里琢治](#) (2009). 中枢神経回路の活動依存的精緻化—マウス体性感覚野に「パレル」が形成される仕組み. 生物の科学 遺伝 63巻4号79-85頁 株式会社エヌ・ティー・エス

吉原 良浩

【原著論文】

- Koide T, Miyasaka N, Morimoto K, Asakawa K, Urasaki A, Kawakami K, and [Yoshihara Y](#) (2009). Olfactory neural circuitry for attraction to amino acids revealed by transposon-mediated gene trap approach in zebrafish. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 9884-9889.
- Miyasaka N, Morimoto K, Tsubokawa T, Higashijima S, Okamoto H, and [Yoshihara Y](#) (2009). From the olfactory bulb to higher brain centers: genetic visualization of secondary olfactory pathways in zebrafish. *J. Neurosci.* 29, 4756-4767.
- [Yoshihara Y](#), De Roo, and M., Muller, D. (2009). Dendritic spine formation and stabilization. *Curr. Opin. Neurobiol.* 19, 146-153.
- [Yoshihara Y](#) (2009). Molecular genetic dissection of the zebrafish olfactory system. In *Chemosensory Systems in Mammals, Fishes and Insects* (eds. W. Meyerhof and S. Korsching) pp.97-120.
- [Yoshihara Y](#) (2009). Immunoglobulin superfamily cell adhesion molecules. In *Encyclopedic References of Neuroscience* (eds. M. D. Binder, N. Hirokawa, U. Windhorst) pp.1923-1926.

岡本 仁

【原著論文】

- Arno, R., Aizawa, H., Takahoko, M., Kobayashi, M., Takahoko, R., Aoki, T., and [Okamoto H](#) (2010) Identification of the zebrafish ventral habenula as a homologue of the mammalian lateral habenula. *J. Neuroscience.* 30:1566-1574.
- Ohata S, Kinoshita S, Aoki R, Tanaka H, Wada H, Tsuruoka-Kinoshita S, Tsuboi T, Watabe S, and [Okamoto H](#) (2009) Neuroepithelial cells require fucosylated glycans to guide the migration of vagus motor neuron progenitors in the developing zebrafish hindbrain *Development*, 136(10):1653-1663.
- Miyasaka N, Morimoto K, Tsubokawa T, Higashijima S, [Okamoto H](#), Yoshihara Y. (2009) From the olfactory bulb to higher brain centers: genetic visualization of secondary olfactory pathways in zebrafish. *J. Neurosci.* 29:4756-4767.
- Carreira-Barbosa F, Kajita M, Morel V, Wada H, [Okamoto H](#), Martinez Arias A, Fujita Y, Wilson SW, Tada M.(2009) Flamingo regulates epiboly and convergence/extension movements through cell cohesive and signalling functions during zebrafish gastrulation. *Development.* 136:383-392.

【総説】

- [岡本仁](#) (2009) 遺伝子と経験が作る神経回路. 現代生物学入門, 第4巻, 神経生物学 (浅島誠編), 岩波書店, 2009年1月5日刊

戸井 基道

【総説】

- [戸井基道](#) (2009) 神経シナプスにおけるナトリウムポンプの新規機能 生化学 81, 797-801.

【学会発表】

- [Doi M](#), Minematsu, H., Kubota, Y., Nishiwaki, K., and Miyamoto, M. (2009) *Caenorhabditis elegans* Ras-interacting protein 1 homologue RIN-1 is a novel effector protein of CED-10/Rac that regulates neuronal cell and axon growth cone migration. *Neuroscience* 2009. P1-e30.



文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究
神経系の動作原理を明らかにするためのシステム分子行動学
領域ニュース vol.1

編集人 多羽田 哲也

発行人 飯野 雄一

発行所 文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究
「神経系の動作原理を明らかにするためのシステム分子行動学」事務局
HP <http://www.molecular-ethology.jp/>

