

## 神経活動依存的な性フェロモン神経回路の可視化と操作

木矢剛智

金沢大学・理工学域・自然システム学系・生物学コース

特任助教（2015年4月から准教授）

動物は外界からの情報を正確に受容・認識し、適切な行動により反応する。しかしながら、感覚情報が行動出力を生み出す神経機構には不明な点が多く残されている。特に脳の高次中枢は、感覚情報の統合や運動指令の判断において最も重要であると考えられるにも関わらず、有効なアプローチがないためその動作原理は未解明のままであった。

感覚情報が行動を生み出す神経機構の解明には、特定の感覚刺激に対する定型行動に着目し、その神経回路及び機能を包括的に明らかにすることが有効である。昆虫の性フェロモンは、特異的な嗅覚受容体の活性化が、性行動といった定型行動を誘発する点で入出力関係が明確であり、感覚入力と行動の関係を調べる目的に適している。また昆虫の脳は、脊椎動物の脳に比べ極めて少数の神経細胞で構成されており、神経回路の包括的な解析が可能である。

本研究者はこのような研究上の利点と、遺伝学的手法を用いた神経機能の解析や比較が可能であるといった観点から、カイコガとショウジョウバエの2種の昆虫を用いて研究を行ってきた。最近、本研究者は新規な神経活動のマーカー遺伝子として *Hr38* を同定し、これらの昆虫の脳で性フェロモンに反応する細胞の分布を明らかにしてきた (*Current Biology*, 2013)。この研究により、嗅覚中枢や運動中枢のみならず、脳の高次中枢として知られる領域の細胞群が性フェロモンの刺激に応じて活動することが明らかとなり、脳高次中枢における感覚情報処理機構の解明には申請者のアプローチが極めて有効であることが示された。

そこで本研究では、これらの *Hr38* 陽性細胞が構成する神経回路の形態や機能を明らかにするために、*Hr38* の転写活性を利用した遺伝子組換えカイコガやショウジョウバエの作成を行った。これらの個体を用いることで、活動の起こった神経細胞だけを特異的に可視化・活動制御することが出来る技術の開発に取り組み、以下の成果を得た。

### 1. 遺伝子組換え (Tg) カイコガを用いた性フェロモン情報を処理する神経回路の同定

本研究では基本的に GAL4/UAS システムを利用した外来遺伝子発現法により、Tg カイコガを用いた解析を行った。GAL4/UAS システムとは特定の遺伝子のプロモーター制御下

に GAL4 を発現させ、GAL4 結合配列の UAS の下流に配置した遺伝子を発現する手法である。本研究では、*Hr38* の発現依存的に GAL4 を発現する Tg カイコガを作成し、これを UAS-myrGFP (細胞膜移行型 GFP) 系統の Tg カイコガと掛け合わせることで、神経活動依存的に細胞の形態を GFP で可視化することの出来るカイコガを作成した。GAL4 のプロモーターに用いる遺伝子配列を様々なパターンで検討し、神経回路の可視化に最適な系統を選別した。その結果、性フェロモンに応答する神経回路の一部を可視化することに成功した。

## 2. 性フェロモンに応答する神経細胞の機能的意義解明のツール開発

これまでに本研究者は、温度依存的に開口するイオンチャネル dTrpA1・シナプス伝達を阻害する破傷風毒素軽鎖(TeTxLC)・Ca インジケーター (GCaMP5G) を GAL4 依存的に発現できるカイコガの作出に取り組んできた。まずはこれらの系統を様々な GAL4 系統と交配させ、その有用性を確認した。具体的には神経活動を操作できるのかといったことや、Ca イメージングによって神経活動を計測することが出来るのかといったことを確認した。これらの系統の有用性・性質をきちんと評価し、今後、上記において可視化した神経回路の人為的な活性化・シナプス伝達阻害・活動のリアルタイム計測に取り組む礎とした。

## 3. ショウジョウバエの脳において性フェロモン情報を処理する神経回路の同定と解析

高度な遺伝学的手法を駆使することのできるショウジョウバエを用い、カイコガと同様のアプローチで性フェロモンに反応する神経回路の同定と解析を行った。本研究開始時点で *Hr38* 転写開始点に GAL4 をノックインした系統の作出に成功していたので、この系統を利用した神経回路可視化の最適条件を検討した。

具体的には1.と同様に、神経活動の起こった神経細胞を GFP で可視化できるショウジョウバエの作出に取り組んだ。その上で嗅覚や味覚などの性フェロモン感覚器官を除去することで、神経活動依存的な GFP 発現パターンにどのような変化があるのかといったことを明らかにした。また、性行動時に活動する多くの細胞が性決定遺伝子である *fruitless* 陽性であることを見出し、どのような神経回路が活動的であるかを明らかにした。

以上の研究により、未だ若干の改善が必要であるが、昆虫の脳において活動依存的に神経回路を可視化・操作する手法の確立に成功し、性フェロモンや性行動に関連した神経回路を明らかにすることが出来た。さらには、脳高次中枢において multimodal な感覚情報の統合に関与すると考えられる神経回路を同定することが出来た。