

「生命動態の理解と制御のための基盤技術の創出」  
平成 24 年度採択研究代表者

H28 年度 実績報告書
-----------------

飯野 雄一

東京大学大学院理学系研究科  
教授

神経系まるごとの観測データに基づく神経回路の動作特性の理解

## § 1. 研究実施体制

### (1)「飯野」グループ

- ① 研究代表者:飯野 雄一 (東京大学大学院理学系研究科、教授)
- ② 研究項目
  - ・神経系まるごとの測定とモデリング
  - ・神経回路の動作特性の理解

### (2)「石原」グループ

- ① 主たる共同研究者:石原 健 (九州大学大学院理学研究院、教授)
- ② 研究項目
  - ・単一神経細胞全体の神経活動の測定
  - ・特定の複数神経の測定とモデリング
  - ・神経系まるごとの測定とモデリング
  - ・神経回路の動作特性の理解

### (3)「岩崎」グループ

- ① 主たる共同研究者:岩崎 唯史 (茨城大学工学部、講師)
- ② 研究項目
  - ・単一神経細胞のモデル構築
  - ・神経回路のモデル構築
  - ・神経系まるごとの測定とモデリング

(4)「吉田」グループ

① 主たる共同研究者: 吉田 亮 (統計数理研究所モデリング研究系、准教授)

② 研究項目

- ・画像情報に基づく神経活動の自動定量化技術の高度化
- ・自動アノテーション・レジストレーション法の開発
- ・単一ニューロンのカルシウムイオン時空間変化の定量化法の開発
- ・神経活動ダイナミクスの可視化

## § 2. 研究実施の概要

本研究は、線虫 *C. elegans* を用い、頭部の神経系全体の動作を3次元的なタイムラプスイメージング(4D イメージング)により測定することにより、神経回路の動作のしくみと行動制御の原理を解明することを目指している。線虫頭部は神経細胞が密集しており、画像処理により近接した細胞を区別するのが難しいので、これを正しく区別して認識する画像解析手法を開発し、この機能に加え、細胞の認識と名前付けのためのユーザーインターフェースを整備した"RoiEdit3D"を今年度論文発表し、ソフトウェアを公開するとともに、これらの開発した手法を用いて神経活動の画像の解析を進めた。

線虫はすべての神経が既知で全神経回路が明らかになっているため、全頭部神経のイメージングにより神経回路と神経活動との対応づけができるはずである。しかし実際には神経の細胞体の位置に大きな個体差があり、観測された神経に名前付けを行う(アノテーション)方法の開発が大きな課題として残っていた。今年度は数理、実験の両方のアプローチからこの問題の解決を図った。

まず、細胞特異的プロモーターを用いてマニュアルで一部神経のアノテーションを行った約 190 サンプルの画像をもとに、多数のバーチャルアトラスを作成し、観測データの細胞位置をこれに対して point cloud matching で対応付けし、さらにアンサンブル学習、ランクフィードバックの手法を用いることによって、70~85%の精度での自動アノテーションを行うアルゴリズムの開発に成功した。一方、実験的な面からアノテーションを補助するために、新たな蛍光蛋白質として tagRFP675 と tagBFP を導入し、これらを観察するためのフィルター/ミラーの組み合わせを構築し、細胞特異的プロモーターを精選した上で、少数神経がマーキングされた線虫株を作成した。イメージングのための観察とアノテーションのための観察を相前後して行い、それらの画像をマッチングさせる方法も開発した。これらの改良によって、取得画像からの細胞のアノテーションが理想的な条件では9割ほどの割合で可能となった。

こうして得られた神経活動のデータから神経回路の動作を解析した。野生型の線虫においては多数の神経に同期した活動が観察される。ヒルベルト変換を用いた解析から、ギャップ結合やシナプス結合を欠く *unc-7* や *unc-13* の変異体で同期性が低下していることが定量的に示された。また、スペクトラルクラスタリングの方法により、神経活動をもとに全頭部神経を4つまたは5つの活動グループにきれいに分けることができた。化学走性行動や感覚情報処理の解析も進展した。

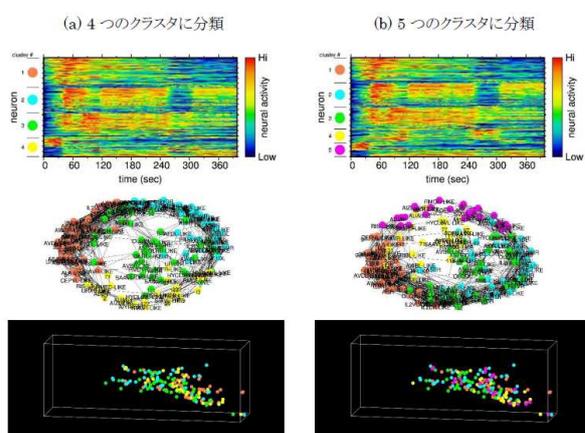


図 スペクトラルクラスタリングを用いた神経細胞のクラスタの例。左は4つのクラスタに、右は5つのクラスタに分けている。下は線虫の体における各神経の位置。

- 1) Yu Toyoshima, Terumasa Tokunaga, Osamu Hirose, Manami Kanamori, Takayuki Teramoto, Moon Sun Jang, Sayuri Kuge, Takeshi Ishihara, Ryo Yoshida, Yuichi Iino, "Accurate Automatic Detection of Densely Distributed Cell Nuclei in 3D Space". Plos Computational Biology Vol. 12, No. 6, e1004970, 2016.
- 2) Fujiwara M, Aoyama I, Hino T, Teramoto T, Ishihara T. "Gonadal maturation changes chemotaxis behavior and neural processing in the olfactory circuit of *Caenorhabditis elegans*" Current Biology vol26, pp1522-1531, 2016.
- 3) Hiromu Sakuma, Takayuki Teramoto, Sayuri Kuge, Takeshi Ishihara and Yuishi Iwasaki, "Large Graph Laplacian Matrix and Functional Map of Whole Brain of *C. elegans*", Proceedings of 2016 International Symposium on Nonlinear Theory and Its Applications, pp.696-699, PaperID 1068, 2016.