

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「生命動態の理解と制御のための
基盤技術の創出」
研究課題「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解明」

研究終了報告書

研究期間 平成24年10月～平成30年3月

研究代表者：飯野雄一
（東京大学大学院
理学系研究科、教授）

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

線虫 *C. elegans* では全神経細胞に名前がつけられ、それらが作る神経回路が明らかになっており、そこで働く分子の機能解析のための手法も整っている。本研究ではこの線虫を用い、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た。

- 1) イメージング装置の構築: 対物ピエゾを搭載したスピニングディスク方式の共焦点顕微鏡を整備し、毎秒5立体程度の4D画像の取得ができるようにした。さらに、カメラおよびレーザーとフィルターのセットに改良を重ね、YC カメレオンまたは GCaMP に加えて mCherry, tagRFP675, tagBFP の合計最大5色での画像取得ができるように整備した(石原グループ)。
- 2) カルシウムプローブの開発: カルシウムプローブである YC や GCaMP を全神経の核に局在させて観察に用いた。また、カルシウム濃度と逆に蛍光が変化する Inverse Pericam を改良することにより、神経活動の低下を高感度で検出できるようにした。(石原グループ)
- 3) 細胞認識: 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ため、これを正しく区別して認識する画像解析手法を開発した。また、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。(飯野グループ)
- 4) 細胞トラッキング: 線虫は微小流路に保定されているものの麻酔されていないために神経細胞の動きが激しく、画像の上でトラッキングするアルゴリズムが必要である。3次元画像に対する有効な既存手法がなかったため、RPHC および SPF の方法を開発し発表するとともに本研究に用いた(吉田グループ)。
- 5) アノテーション: 細胞の名前をつける作業は細胞体の位置の個体差が大きいいため非常に難しい課題であった。そこで、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マッチさせ、さらに集合知アルゴリズム、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(吉田グループ)。さらに、線虫株と顕微鏡を繰り返し改良し、イメージングの際に使える細胞マーカーを導入しアノテーションの補助とした(石原グループ、飯野グループ)。
- 6) 神経回路の動作の解明: 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た。フーリエ変換と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分けることができた(石原グループ、岩崎グループ)。

さらに、神経細胞の活動の間の関係を相互相関、グレンジャー因果性、Convergent Cross Mapping により解析した。その結果、個体間で、または同じ個体でも時間経過によって神経間の関係が大きく変化した、固定された神経回路は非常に少ないことが分かった。神経回路における伝達関係が常に動的に変化しながら行動を作り出す機構が推定された(飯野グループ、吉田グループ、岩崎グループ)。

- 7) 化学走性の可塑性と感覚相互作用の機構: 線虫は餌とともに経験した塩濃度に向かい、飢餓とともに経験した塩濃度を避ける学習を行う。感覚神経から介在神経への伝達が変わることがこの機構の重要な要素であることが明らかとなった。さらに、ジアシルグリセロールが塩濃度の記憶分子のひとつとして働き、行動可塑性の要因となることを明らかにした。一方、飢餓による行動変化はインスリン受容体のひとつが軸索に運ばれてシナプス部位で機能することにより起こることが明らかとなった。

ジアセチルと銅イオンが同時に与えられた際の行動を司る神経活動を特定の介在神経を標識して観測した結果、刺激によって神経活動の相関の程度が異なっており、刺激に応じて機能的な神経回路が変化する可能性が示唆された。

(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1.

概要: (200 字程度)

線虫の味覚忌避学習の分子神経機構について明らかにした。線虫は飢餓下で塩を経験すると学習を行い、その後は塩を忌避するようになる。味覚神経におけるインスリン受容体のシナプス領域への移動がこの学習に重要な機構であることがわかった。シナプス部位のインスリン受容体の下流でホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ経路が働くと忌避行動が生じ、これが感覚神経からのシナプス出力の抑制によるものであろうことが明らかとなった(Ohno et al., 2014)。

2.

概要: (200 字程度)

餌の匂いであるジアセチルへの走性が幼虫期から成虫期にかけて顕著に強くなり、生殖腺がこの変化をもたらしていることがわかった。これにより、感覚神経と介在神経両者の活動に変化が起り、FOXO 転写因子が必須な機能を担うことがわかった。体内組織の発達状態に応じて行動が変化する一般的なしくみのひとつであると考えられる(Fujiwara et al., 2016)。

3.

概要: (200 字程度)

線虫は受容する塩の濃度を記憶しその濃度への走性を示す。この刺激強度が分子レベルで記憶される機構について明らかにした。鍵となるのは感覚神経の前シナプス部位におけるジアシルグリセロール (DAG) である。分子イメージングの結果、DAG の濃度は感覚入力である塩の濃度の変化により増減し、この変化が一定時間維持されていた。一方、DAG の量の変化すると、それにより化学走性の方向が変化する。この機構により、線虫は以前に経験した塩濃度に向かうことがわかった(Ohno et al. 2017)。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1.

概要: (200 字程度)

神経細胞の核を蛍光ラベルして取得した画像から、細胞をトラッキングしつつ細胞領域の蛍光輝度を数値化するプログラムを開発した。処理は以下のステップからなる。

- i) 画像にカーネル密度推定を施す。
 - ii) 勾配法による繰り返し最適化でローカルモードを検出する。多数の粒子を並列で最適化していく。この際に、粒子間に反発を導入することにより少数のモードへの縮約を防ぐ。
 - iii) 時間軸方向への細胞の自動追跡のために、大域的にはアフィン変化、ただし局所的にはこれからの逸脱を仮定したモデルをとる。バネ係数で規定される束縛をもつ最小全域木の状態をマルコフ確率場で記述し、事後分布最大化推定を行う。
 - iv) 決定されたモードをシードとして分水嶺法により各細胞の領域を決定する。
- この方法、特に(ii)の並列最適化は細胞画像のみならずさまざまな応用が可能である(Tokunaga et al., 2014)。

2.

概要: (200 字程度)

立体画像中に密に存在する細胞を見落としなく高精度に検出する新しい手法を考案した。3D 画像上の等輝度点の曲率を求め、これが負である部位を検出して融合した核を分離するアルゴリズムと、多変量混合正規分布の高速当てはめのアルゴリズムを組み合わせ、高精度で細

胞を検出することに成功した。この手法を細胞の追跡と定量にも適用することで、立体動画中のすべての神経細胞の活動を自動的に測定できるようになった。本成果によって、神経科学や生命科学に限らず、細胞や粒子を見落としなく検出・追跡することが必要な研究全般が促進されることが期待される(Toyoshima et al. 2016)。

3.

概要: (200 字程度)

グラフ理論に基づいて多数の神経活動データを高効率かつ高速に分類する手法を考案した。手順は次のとおりである。1) 神経活動データ間の類似性行列を計算する。2) 類似性行列から Graph Laplacian を計算する。3) Spectral Clustering (Graph Laplacian の固有値問題に帰着) により各神経活動データにラベルを付ける。Spectral Clustering は分類精度が高く高速であるため、神経細胞数が線虫より圧倒的に多いショウジョウバエ、ゼブラフィッシュ、マウス、ヒトを対象とした脳機能マッピングへの応用が可能である(Sakuma et al., 2016)。

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

①「飯野」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
飯野 雄一	東京大学大学院理学系研究科	教授	H24.10～
國友 博文	同上	助教、准教授	H24.10～
富岡 征大	同上	助教	H24.10～
豊島 有	同上	助教	H24.10～
金森 真奈美	同上	派遣スタッフ	H25.2～
Jang Moonsun	同上	特任研究員	H26.5～
佐藤 博文	同上	D1～D3、研究員	H25.4～
パク チャンヒョン	同上	M1～D1	H27.4～
池 泰明	同上	M1～D1	H27.4～
永嶋 宇	同上	D2～D3	H28.4～
佐藤 研	同上	M1～M2	H28.4～
森 啓太	同上	M1～M2	H28.4～
柳 秀一	同上	M1～M2	H28.4～
陳 立俊	同上	M1～M2	H28.4～
Llian Mabardi	同上	M1	H29.4～
廣木 進吾	同上	M1	H29.4～
桜井 裕樹	同上	D1～D3	H24.10～H27.3
佐藤 陽介	同上	D1～D3	H25.4～H28.3
片江 圭太	同上	M1～M2	H26.4～H28.3
大橋 智彦	同上	M1～M2	H27.4～H28.3
Wang Lifang	同上	D1～D3	H26.4～H29.3
土屋 純一	同上	M2～D3	H25.4～H29.3
鳥谷部 啓	同上	D3	H26.4～H29.3
後屋敷 舞	同上	M1～M2	H27.4～H29.3
大野 速雄	同上	D3、特任研究員、 特任助教	H25.4～H29.6
酒井 奈緒子	同上	D1～D3、研究員	H24.10～H29.6

研究項目

- ・ 包括的神経活動イメージングによる塩濃度空間勾配の認識と学習の機構の解明

②「石原」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
石原 健	九州大学理学研究院	教授	H24.10～
寺本孝行	九州大学理学研究院	准教授	H24.10～
久下小百合	九州大学理学研究院	学術研究員	H25.4～
山口美鈴	九州大学理学研究院	テクニカルスタ ッフ	H28.4～
藤原 学	九州大学理学研究院	助教	H24.10～

猿渡悦子	九州大学基幹教育院	助教	H24.10～
北園智弘	九州大学システム生命科学府	D5 (5 年一貫性)	H24.10～
日野喬央	九州大学システム生命科学府	D4 (5 年一貫性)	H28.4～
大江紗	九州大学システム生命科学府	D2 (5 年一貫性)	H28.4～
森田百恵	九州大学理学研究院	テクニカルスタ ッフ	H28.8～
佐藤則子	九州大学理学研究院	テクニカルスタ ッフ	H29.4～
村上悠子	九州大学理学部	学部 4 年生	H29.4～
末吉智奈佐	九州大学理学研究院	テクニカルスタッフ	H27.5～H28.3
吉田尚生	九州大学理学研究院	テクニカルスタッフ	H25.6～H27.2

研究項目

- ・ 4D イメージングシステムによる神経回路活動の解析

③「岩崎」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
岩崎 唯史	茨城大学工学部	講師	H24.10～
小沼 卓也	茨城大学大学院理工学研究科	M1～M2	H25.4～H27.3
藤澤 良太	茨城大学大学院理工学研究科	M2	H26.4～H27.3
宇壽山 衛	茨城大学工学部	産学官連携研究 員	H25.6～H29.3
佐久間 大夢	茨城大学大学院理工学研究科	M1～M2	H27.4～H29.3

研究項目

- ・ イメージングデータを利用した単一神経細胞および神経回路のモデル構築

④「吉田」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
吉田 亮	統計数理研究所 モデリング研究系	准教授	H24.10～
逸見 昌之	統計数理研究所 データ科学研究系	准教授	H24.10～
Stephen Wu	統計数理研究所 データ同化研究開発センター (現:統計数理研究所モデリン グ研究系 助教)	特任助教 (現:助教)	H28.1～
柳 絢子	統計数理研究所 モデリング研究系	技術補佐員	H24.10～H29.5
広瀬 修	金沢大学理工研究域 電子情報学系	助教	H25.1～
徳永 旭将	統計数理研究所 データ同化研究開発センター	特任助教 (現:准教授)	H25.5～

	(現:九州工業大学大学院情報工学研究院 准教授)		
山田 寛尚	統計数理研究所 データ同化研究開発センター	特任研究員	H29.5～
横森るみ子	統計数理研究所 モデリング研究系	技術補佐員	H29.4～
池端 久貴	総合研究大学院大学複合科学研究科統計科学専攻 (現:旭化成株式会社基盤技術研究所)	5年一貫制博士 課程 D1～D5	H24.10～H29.3

研究項目

- ・ 4D イメージングデータに基づく神経細胞ネットワークの構造推定

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について
(研究チーム外での連携や協働についてご記入ください。ライフ分野では臨床医等を含みます。)

- ・飯野、石原は、国内外の線虫、ショウジョウバエ、ゼブラフィッシュなどの全脳イメージングや全脳機能解析を行っている研究者と2015年神経科学学会のシンポジウムで交流を行った。
- ・飯野は、オーストラリア、メルボルン大学工学部のJonarhan Manton教授(代数幾何学、シグナルプロセッシングの専門家)と線虫行動のモデリングについて共同研究を行った。
- ・石原は、蛍光タンパク質センサーの開発を進めている永井健治教授(大阪大学)と共同で、インバース型カルシウムセンサーの開発を行った。
- ・吉田は、CREST生命動態領域 栗原チームの画像解析(血管内皮細胞のトラッキング)を支援している。
- ・吉田は、平成26年6月 バイオイメージ・インフォマティクスの研究者 Jasmine Burguet 博士 (French National Institute for Agricultural Research (INRA), France) を統計数理研究所に招聘し、継続的な研究交流を行っている。
- ・吉田は、逐次モンテカルロ法の研究で著名な Arnaud Doucet 博士(オックスフォード大学)と共同研究体制を構築している(毎年、日英間を相互訪問)。
- ・吉田は、平成26年度 統計数理研究所 公開講座「バイオイメージングデータの統計解析」において、バイオイメージ・インフォマティクスの集中講義を開催した。参加者の9割以上は企業の研究者で、製薬、食品、ヘルスケア関連の業種が多数を占めた。その他にも数多くの講演活動を行い、定量生物学やシステムズバイオロジーのコミュニティに向けてバイオイメージ・インフォマティクスに関する情報発信を行ってきた。
- ・平成29年7月に統計数理研究所ものづくりデータ科学研究センター(センター長 吉田)が設立され、複数の参画企業と共同でものづくりを対象とするデータ科学(画像情報処理を含む)の研究を推進している。
- ・平成29年7月に本研究課題の主催にて国際シンポジウムを開催し、国外からManuel Zimmer (IMP、オーストリア)、Ruben Portugues (Max Planck Inst. 独)、Ralph Greenspan (UCSD、米)、国内では津田一郎教授(中部大学)、銅谷賢治チームリーダー(OIST)を初めとする著名な研究者を招いてチーム全員が研究交流を行った。特に同じ線虫の4Dイメージングを行っているManuel Zimmerとは同時期に開催された第40回日本神経科学大会でコオーガナイザーとして公募シンポジウムを開催するなど交流を深めるとともに双方の結果について密に議論を交わした。

§ 3 研究実施内容及び成果

3. 1 包括的神経活動イメージングによる塩濃度空間勾配の認識と学習の機構の解明(東京大学 飯野グループ)

(1)研究実施内容及び成果

1) 特定の複数神経の測定とモデリング—ASE 感覚神経と下流神経の測定

線虫は塩濃度と餌の有無を連合させて学習を行う。餌のある状態で一定の NaCl 濃度で条件付けされた線虫はその NaCl 濃度への走性を示す。つまり、それより高い濃度に置かれると低濃度へ、低い濃度では高濃度への走性を示す。この行動可塑性は主に Cl^- イオンの受容によるもので、右の ASE 神経 (ASER) に担われている (Kunitomo et al. Nat. Neurosci. 2013)。学習により神経回路のどこが変化して、同じ感覚刺激に対して逆の行動出力を示すようになるのかを、トラッキングイメージングにより解析した。その結果、塩濃度変化に対する ASER 神経の応答は条件付けの違いにより変化しないが、その下流に位置する AIB 一次介在神経の応答は低塩濃度条件付け後と高塩濃度条件付け後の線虫で逆転することがわかった (図1)。このことから、ASER から AIB 神経への伝達が記憶に依存して変化することにより回路の動作が変化することが推定された。ASER から AIB へのグルタミン酸による伝達が重要であることも分かった。

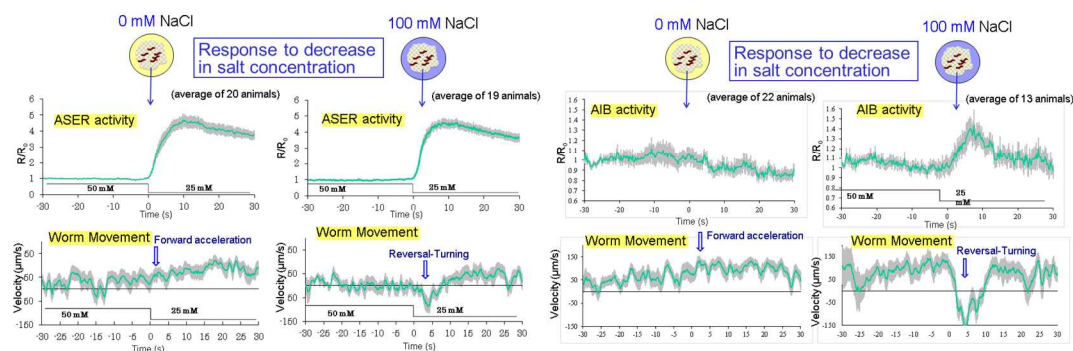


図1 ASER 感覚神経 (左) と AIB 介在神経 (右) の塩濃度変化に対する応答

一方、 Na^+ イオンで条件付けされた線虫は高い Na^+ 濃度に誘引されるのに対し、 Na^+ なしで条件付けされた線虫は Na^+ 走性を示さないことを新たに見いだした。この学習の成立には、左側の ASE 神経 (ASEL 神経) からの Na^+ 刺激の入力だけで十分であることを明らかにした。 Na^+ 条件付けされた線虫を使い、光遺伝学の方法で ASEL 味覚神経だけを刺激すると、前進行動が促進され、この反応が Na^+ に向かう行動を作り出していることがわかった。さらに、この行動制御には ASEL 味覚神経からのシグナルを受け取る一次介在神経である AIA 神経、AIB 神経、AIY 神経が必要であることがわかった。次に、それぞれの一次介在神経を刺激したところ、AIB は方向転換を促進し、AIA と AIY は前進行動を促進することが明らかになった。さらに、ASEL 味覚神経を刺激すると、AIB の活動が減少し、AIA と AIY の活動が上昇することが観察され、これらの神経活動の変化によって、 Na^+ への誘引が引き起こされると考えられた。さらに、 Na^+ 非存在下で条件付けされた線虫では ASEL に対する光遺伝学により ASEL の活性化が起こらず、ASEL の反応性が低下していることがわかった。以上から、ASEL 神経からの情報の流れが下流の神経回路により処理され可塑的な走性を引き起こす機構が明らかになった (Wang et al. J. Neurosci. 2017、図 2)。

飼育

Na⁺あり飼育

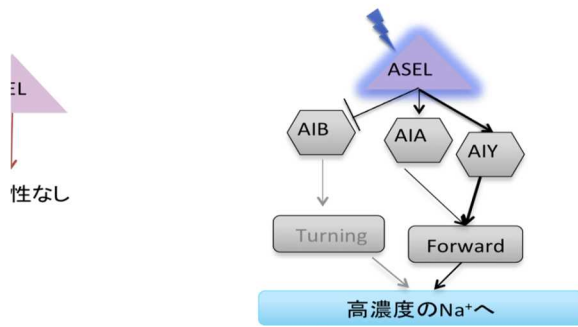


図2:Na⁺記憶により行動が変化するしくみ

(左)Na⁺なし条件付けされた線虫はASELが活動せずナトリウム走性を示さない。(右)Na⁺あり条件付けされた線虫がNa⁺走性を起こす神経回路。

2) 神経系まるごとの測定とモデリングー画像アラインメント法の確立

石原グループに設置した 4D イメージング装置(後述)を用いて 4D イメージングを行い、その測定結果を神経ネットワークの動作の解明に結びつけるために、線虫で既知となっている神経の結合関係の情報を用いることを計画したが、研究開始後すぐに、神経細胞の配置には個体差が非常に大きいことが明確になった。そこで、個体差の情報を収集することにより、異なる個体でも正確な細胞アノテーションを行えるようにすることが本研究の新たな課題となった。

全神経細胞の核で mCherry を発現する線虫株をもとにし、さらに、既知の少数の神経細胞に発現を誘導する各種プロモーターで核局在 YC2.60 を発現させた線虫株を作成し、高解像度の共焦点 3D 画像を多数取得した。現時点までに 51 種のプロモーターについて合計 1000 個体以上の 3D 画像を撮影した。

これらの画像から全細胞核の位置や輝度を数値化するために、取り漏らしのない細胞認識・セグメンテーション法が必要となった。線虫の頭部神経は細胞体が密集しており、既存の手法では個々の細胞が融合して検出される場合が多く不都合なため、新たな手法を開発した。3D 画像上の等輝度点の曲率を求め、これが負である部位を検出して融合した核を分離するアルゴリズムと、多変量混合正規分布の高速当てはめのアルゴリズムを用いて高精度で細胞を検出することに成功した。さらに、人手で誤りを正しつつアノテーションを付加するための GUI (roiedit3d) を作成した(図 3、Toyoshima et al., 2016)。

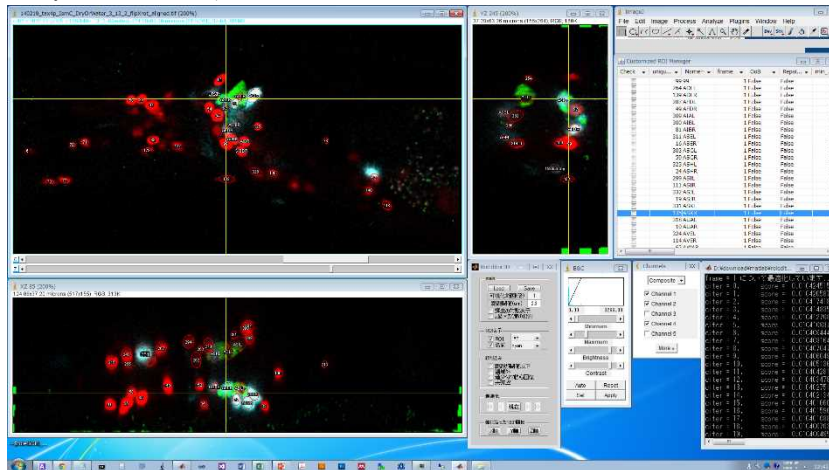


図 3 roiedit3d の表示画面

こうして細胞特異的プロモーターの実際の発現細胞のデータベースを構築した。このデータベースから、1 個体の神経細胞をできるだけ多く同定するために適切なプロモーターの組み合わせを探索し、*eat-4* プロモーター、*glr-1* プロモーター、*ser-2* プロモーター2 を選定した。細胞同定用の蛍光タンパク質として tagRFP675 と tagBFP が利用できるようになったので(石原グループ、後述)、選定したプロモーターによってこれらの蛍光タンパク質が発現する線虫株を作出した。4D イメージング用に汎神経的に mCherry と YC2.60 を発現す

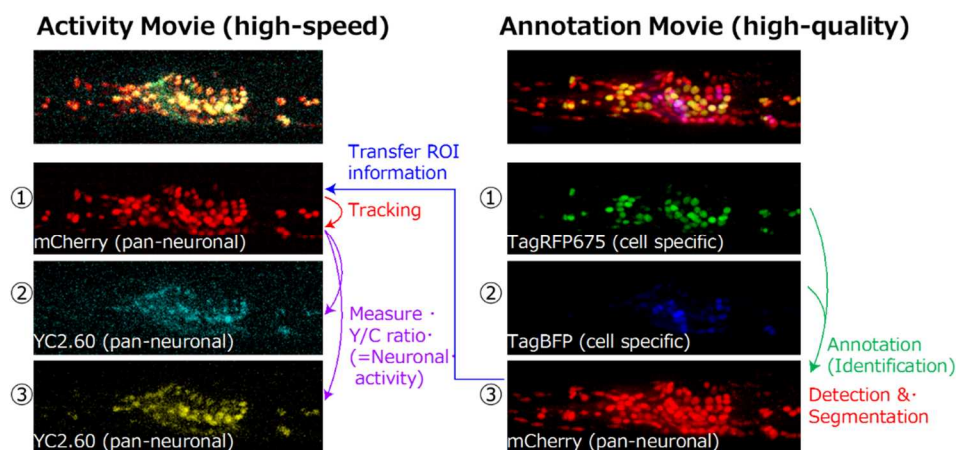


図5 2種の4D画像の取得からアノテーション、神経活動定量化までの画像処理パイプライン

3) 神経系まるごとの測定とモデリングー4Dイメージングの実行

2)で作製したパイプラインを用いて、実際に塩刺激を与えながら頭部神経の活動を測定し、結果を解析した(図6)。本研究課題の遂行中に報告された Zimmer 研究室の研究(Kato et al. Cell 2015)では、本課題と同様に頭部神経の4Dイメージングを行い、得られた全神経の活動について主成分分析を行っている。主要な3主成分により活動の推移を表示すると、特定の軌道に従って活動が変化すると報告された。一方、本研究の結果は彼らの結果と大きく異なることが明らかとなった。まず、彼らの結果は神経細胞の活動とその順序が定型的である傾向がある(図7)。神経細胞間の関係も比較的固定している。これがPCA解析において神経活動が一定の軌道を描き、異なる個体間でも同様な軌道がみられる主な理由である。

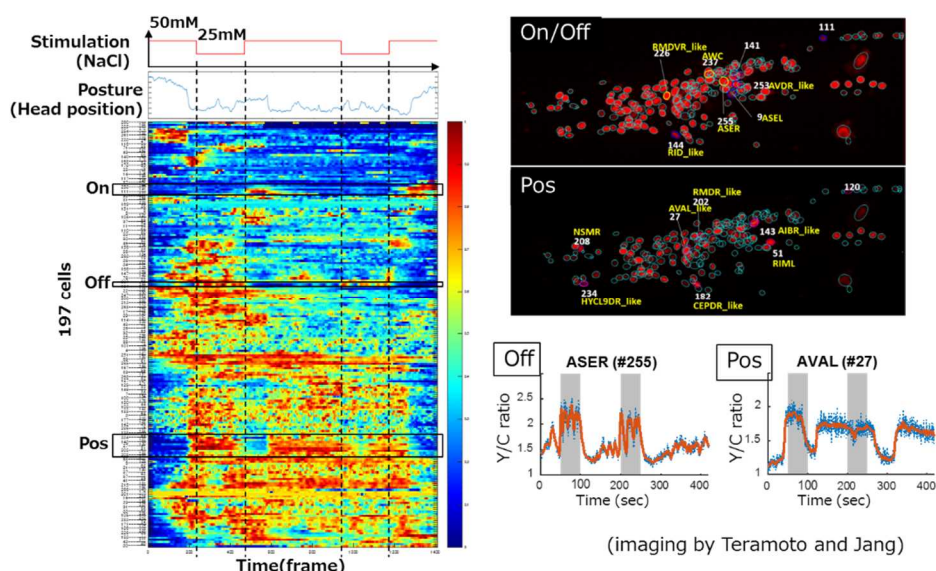


図6 解析結果の例。左各神経細胞の活動をヒートマップで表示。右は特定のパターンで活動する神経の位置と活動。

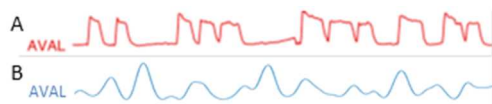


図7 A: Katoらの神経活動の例 (Kato et al. 2015, Fig. S1A) B: 我々のデータ。同じ AVAL 神経についての一例ずつを示す。

一方、我々の結果について同様の PCA 解析を行うと、彼らの結果より軌道の変化が大きいことが分かった。さらに、神経細胞間の関係について相関解析 (吉田グループによる) およびグレンジャー因果性解析 (岩崎グループ、後述) を行ったところ、個体間での保存性が非常に小さいことがわかった。つまり、動的に神経回路が変化していることが示唆された。Kato らとの違いの原因は現時点で不明であるが、1) カルシウムプローブの違い (本研究では YC2.60、Kato らは GCaMP5K)、2) 麻酔剤の使用 (本研究では不使用、Kato らはレバミゾールにより筋肉を麻痺させている; 石原グループ後述)、3) 微小流路の違い (Kato らの方が動きを強く制限している) などが考えられる。

4) 神経回路の動作特性の理解—二次元情報の認識と化学走性の機構

線虫が好ましい塩濃度に向かう際には塩濃度の二次元上の空間勾配を認識し、それに従って進行方向を制御する必要がある。この機構には少なくとも2つあることが知られている。一つは継続的に塩の濃度が変化したときに急な方向転換の行動の頻度を変えることにより正しい方向に向かう機構 (ピルエット機構)、もうひとつは前進に伴う首振りの周期で塩の濃度が変化したときにゆっくりと進行方向を変化させる機構 (風見鶏機構) である。前者は進行方向への濃度勾配、後者は進行方向に垂直な濃度勾配の認識を行っていると推測される。後者の神経機構を明らかにするために、チャンネルロドプシンを用いて塩濃度変化を模した神経活動を作り出す実験を行った。

正立顕微鏡と電動ステージ、LED 照明からなる自動追尾光刺激装置を作成し、ASER 感覚神経にチャンネルロドプシンを発現させた線虫が一方に首を振ったときのみ光刺激を与えたところ、線虫はカーブして進んだ。このことは空間勾配の認識が首振りに応じた感覚入力変化を認識したものであることを裏付けた。前述のように、線虫は以前に培養されていた濃度を記憶し、その濃度の方に向う。培養濃度を変化させたところ、線虫は逆の方向にカーブした。ASER 下流の AIA, AIB, AIY 神経についても同様の光刺激実験を行ったところ、AIY の光刺激は強い刺激側へのカーブを引き起こし、この方向は記憶に依存していなかった。このことから、ASER 感覚神経からのシナプス伝達のレベルで回路の動作が変化していることが推定された。この結果を論文として発表した (Satoh et al. J. Neurosci, 2014)。

5) 神経回路の動作特性の理解—濃度の記憶と連合学習の機構

上記のように線虫は以前に餌の存在下で条件付けされた NaCl 濃度に向かう走性行動を行う。この濃度の記憶が分子的にどのように蓄えられているかは不明であった。しかし、これまでの研究から ASER 感覚神経における DAG (ジアシルグリセロール) の濃度を人為的に上昇させると線虫は塩濃度の高い方に向かい、低下させると低い方向に向かうことがわかってきた。そこで、実際に生理的条件下で DAG の濃度がどう変化しているかを蛍光プローブ Downward DAG2 を用いて測定したところ、ASER 感覚神経の前シナプス部位における DAG の量が塩濃度の感覚刺激により変化することが見出された。具体的には塩濃度が上昇すると DAG 量が低下し、塩濃度が低下すると DAG 量が低下した。また、飢餓を経験させるとその変化が小さく持続時間が短くなり、この制御にはインスリン経路が関わるということがわかった。以上の観察より、DAG が濃度の差をコードして短期的な記憶として働き、線虫が以前に経験した塩濃度に向かう行動を作り出すことがわかった (Ohno et al. Cell Reports

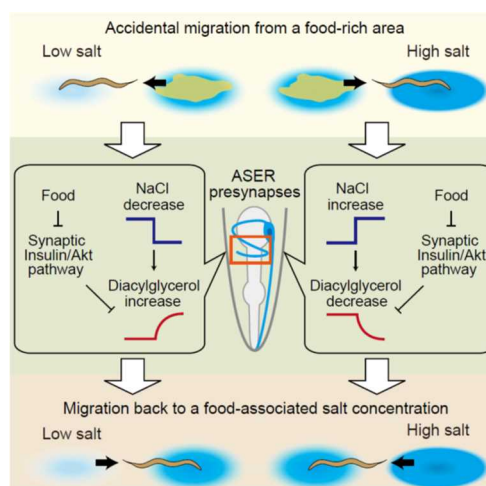


図10 NaClの濃度変化によりDAGが増減し、それにより走性の方向が決まり以前の濃度に向かう (Ohno et al. 2017より)。

2017、図 10)。

一方、線虫を特定の NaCl 濃度で餌なしで(飢餓状態で)飼育し、そのあとに NaCl 濃度勾配上での行動を調べると、餌ありで飼育した場合と逆転して、線虫はそれまでに飼育されていた NaCl 濃度を避けるようになる。これを味覚忌避学習と呼んでいる。この学習には ASER 感覚神経においてインスリン受容体 DAF-2 を中心とするインスリン/PI3 キナーゼシグナル伝達経路が働くことが必要である。インスリン受容体 DAF-2 には選択的スプライシングにより生じるいくつかのアイソフォームがあり、そのうちの DAF-2c のみが学習を仲介できることがみつかった。さらに、DAF-2c は ASER 神経のシナプス出力を担う軸索部に多く局在しており、飢餓により軸索局在が増加した。DAF-2c の軸索局在が学習による行動変化に必要なのかを調べるため、光活性化プロブを用いた人為的活性化を行ったところ、シナプスの存在する軸索部で PI3 キナーゼを活性化させたときのみ、その線虫は塩を忌避するようになった(図 11A)。また、DAF-2c の働きによってシナプス伝達が低下することが明らかになった。これらのことから、DAF-2c がシナプス部位に局在することによって、ASER 神経からのシナプス伝達が阻害され、行動が塩忌避に転換するという機構が明らかになった(図 11B)。この結果を論文として発表した(Ohno et al. Science 2014)。

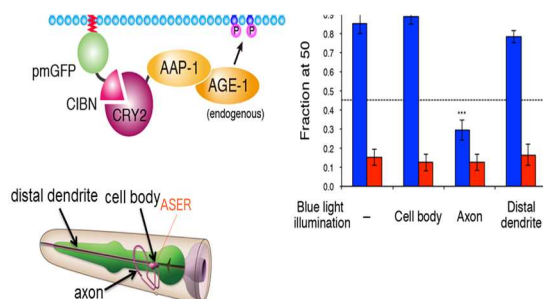


図 11A PI3K の光活性化実験

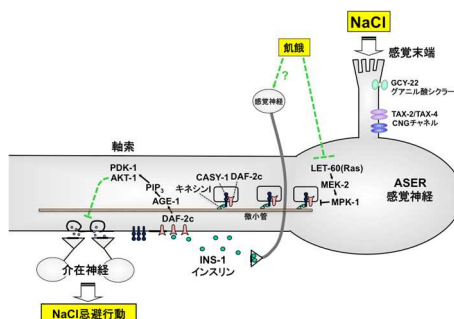


図 11B DAF-2c インスリン受容体の軸索局在による感覚神経の出力の変化と学習の機構

3. 2 4D イメージングシステムによる神経回路活動の解析(九州大学 石原グループ)

(1)研究実施内容及び成果

1) 単一神経細胞の測定

線虫 *C. elegans* の単一ニューロンの応答性を調べるために、単一ニューロンに蛍光 Ca^{2+} プロブと蛍光タンパク質を発現させた線虫を作成し、微小流路内に導入して、感覚刺激に依存した蛍光変化を観察した。線虫の動きを補正するために、蛍光タンパク質の画像を基にトラッキングを行い、蛍光 Ca^{2+} プロブと蛍光タンパク質の蛍光輝度の比を測定することによって、 Ca^{2+} 濃度変化の解析をおこなった。蛍光 Ca^{2+} プロブとして、GCaMP6f と、新規に開発した IP2.0 (両者は応答性が異なる)を用いた。

イソアミルアルコール(IAA)を受容する AWC^{ON} 感覚細胞の応答を 4D イメージングシステムを用いて測定した。その結果、細胞体においては、樹状突起や細胞体に比べて、 Ca^{2+} 濃度上昇が持続することがわかった(図 13)。

神経細胞による応答性の違いの詳細を明らかにする目的で、 AWC^{ON} 神経細胞について、細胞体、樹状突起、軸索が同時に観察できる平面の画像を高速に取得し、その初期応答の違いを解析した。その結果、 Ca^{2+} 濃度変化は、神経軸索で最も速く変化していることがわかった。そこで、このような神経細胞の特性が他の

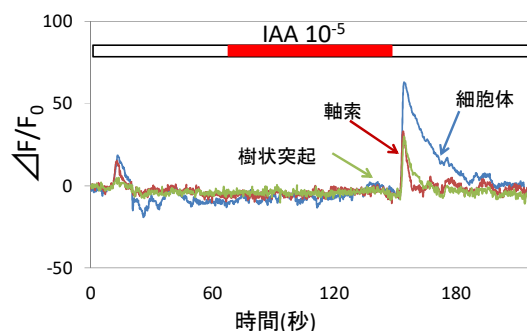


図 13 AWC^{ON} 神経細胞のイソアミルアルコール (IAA) に対する応答

感覚ニューロンでも共通であるかどうかを確かめるために、ジアセチルを受容する AWA 神経細胞と NaCl を受容する ASER 神経細胞においても、同様の測定を行った。AWA 神経細胞や ASER 神経細胞では、AWC^{ON} 神経細胞とは異なり、応答速度には違いが見られなかった(図 14)。これは、AWC^{ON} 神経細胞では、電位依存性カルシウムチャンネル UNC-2 が神経軸索に濃縮して存在しているためであると考えている。

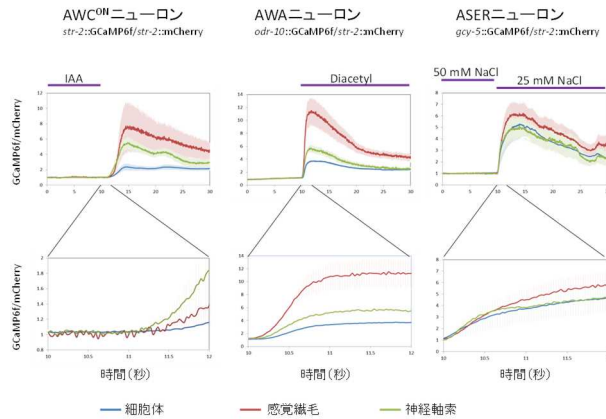


図 14 AWC^{ON}, AWA, ASER 神経細胞における刺激に対する初期応答の違い

2) 特定の複数神経の測定とモデリング

ASH, AWA 感覚神経と下流神経の測定

線虫は、匂い物質ジアセチルを AWA 感覚神経細胞で受容し誘引行動を示す。一方、銅イオンを主に ASH 感覚神経で受容し忌避行動を示す。これまでに、ジアセチルと銅イオンとを同時に与えたときの行動解析から、AIA 介在神経が情報の統合に重要な役割を示すことが分かっている。そこで、それぞれの神経細胞に特異的なプロモーターを組み合わせ、Ca²⁺プローブを発現させた線虫を作成した。この線虫の頭部を4D イメージングシステムを用いて観察することにより、神経回路を構成する複数の細胞の Ca²⁺イオン濃度変化を個別に測定した。

ジアセチルなどの匂いを感じる AWA 感覚神経と、AWA 神経からシナプス出力を受け取る AIA 介在神経、AIB 介在神経について、匂い刺激に対する Ca²⁺応答を同時に測定した。その結果、

AIA 神経が AWA 神経と同方向に応答する(匂いの添加に応答する)のに対し、AIB 神経はこれと同時に、かつ鏡像的に応答することが観測された(図 15)。

しかし、それぞれの神経細胞に特異的なプロモーターを組み合わせると Ca²⁺プローブを発現させると、プロモーターの種類が増えるにつれ、個々の細胞の発現量にばらつきがみられ、安定した結果を得ることが難しいことがわかった。そこで全ての神経細胞の活動を測定し、神経細胞を同定したうえで、個別に複数の神経細胞の活動を抽出して、解析を進めた(後述)。

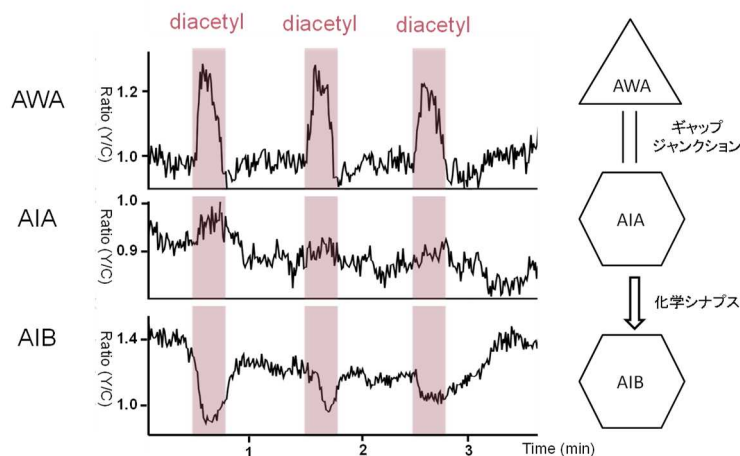


図 15 感覚神経細胞 AWA と介在神経細胞 AIA、AIB の応答の同時イメージング
右にこれらの神経細胞の結合様式を示した。

3) 神経系まるごとの測定とモデリング

A) カルシウムレポーターの選択と最適化

神経活動を測定する Ca^{2+} プローブについては、多くの種類が知られていて、 Ca^{2+} との結合定数、 Ca^{2+} と結合したときの蛍光特性の変化などに特徴がある。私達は、従来から用いていた FRET 型 Ca^{2+} プローブ (YC2.60) だけでなく、早い応答を調べることを目的とした GCaMP6f を用いた 4D イメージングシステムも構築した。GCaMP6f を神経細胞の核に局在させるために、GCaMP6f につける核移行シグナルを最適化した後に、全ての中樞神経細胞で GCaMP6f と mCherry を発現している線虫株を作成し、4D イメージングを行った。解析の精度をあげることを目的として、細胞のトラッキング等のために用いている mCherry との蛍光強度比をもとに、中枢神経系における細胞内カルシウム濃度変化を解析した (図 16)。その結果、YC2.60 に比べて早い時間変化を計測できる可能性があることが分かった。

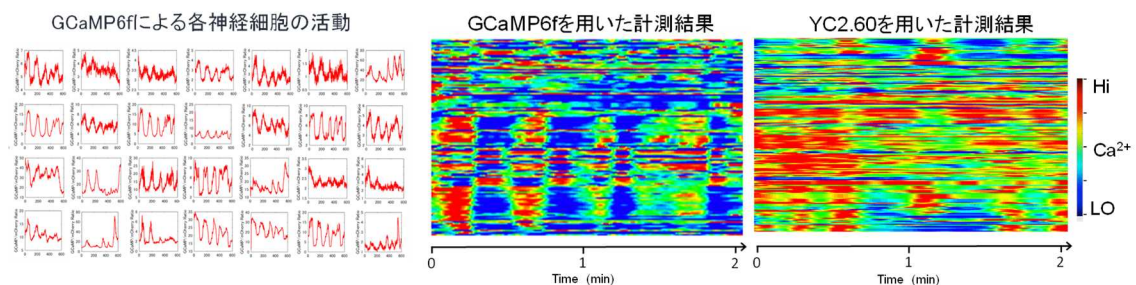


図 16 GCaMP6f による全中枢神経活動のイメージング

B) 細胞同定のためのイメージング方法の整備(飯野グループ、吉田グループと共同)

吉田グループや飯野グループで行っている機械学習による細胞同定手法(アノテーション)をより高精度に行うために、細胞同定用蛍光タンパク質を特定の神経細胞に発現させた。 Ca^{2+} プローブと細胞追跡に用いている赤色以外の波長を持つ蛍光タンパク質を、4D イメージングに用いる株において、特定の神経細胞において発現させている。短波長の蛍光タンパク質として tagBFP、近赤外の蛍光タンパク質として tagRFP または mCardinal を用いた。また、細胞追跡に用いる赤色蛍光タンパク質としても、mCherry を利用していたが、近赤外の蛍光が弱い tdTomato も用いている。 Ca^{2+} イメージングと細胞同定用の撮影をレーザーコンバイナーの切り替えだけで行えるように、光学系のセットアップを行った。これらを同時撮影した株を図 18 に示した。

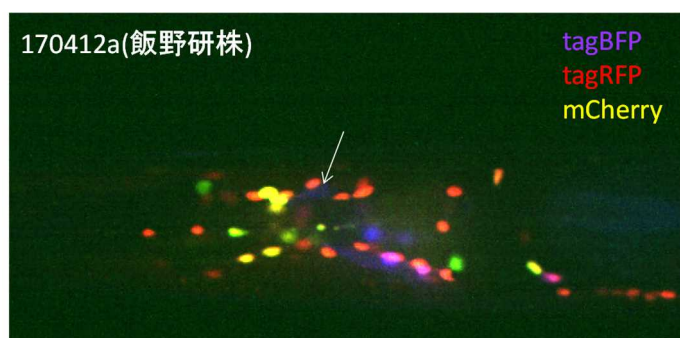


図 18 4D イメージングに用いる線虫株における細胞同定用蛍光タンパク質の同時発現

C) 4D イメージングの実行(飯野グループ、吉田グループと共同)

神経活動の測定のために、頭部の全ての神経細胞核に mCherry と核に局在する FRET 型 Ca^{2+} プローブ YC2.60 を発現させた線虫株を用いて、4D イメージングを行った。得られた画像から、画像処理を行って、各細胞の追跡、細胞領域の決定、YFP/CFP の蛍光強度比の計算を行うパイプラインを、吉田グループ、飯野グループらと共同で作成した。

この結果を mCherry 画像に基づいて決定した個々の神経細胞領域の座標と対応させることによ

って、個々の神経細胞内の Ca^{2+} の濃度変化を推定できるようになった。このようにして得られた個々の神経細胞の座標、蛍光強度などの例を図 19 に示す。

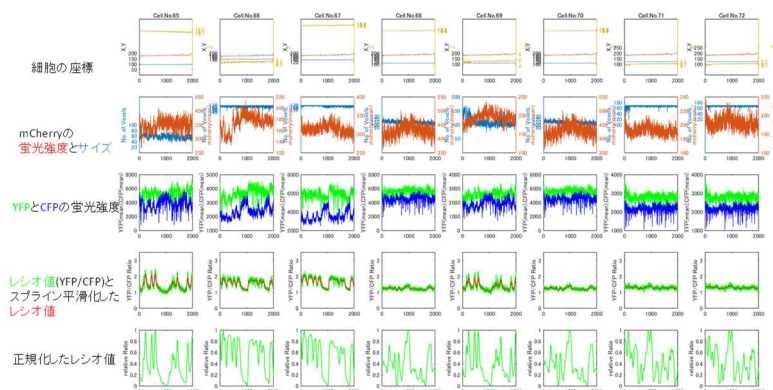


図 19 4D イメージングによって得られた個々の神経細胞の座標や輝度値などのデータの一例

3.3 イメージングデータを利用した単一神経細胞および神経回路のモデル構築 (茨城大学 岩崎グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

実施方法

生体分子間の化学反応式、各種イオン濃度の電界拡散方程式、神経細胞の膜電位特性および蛍光タンパク質の応答速度に着目した点素子モデルなどをモデル化の対象となるニューロン数に応じて使い分け、各ニューロンの神経活動の時空間変化を扱う数理モデルを構築した。その際、実験データと定量的に比較可能であることを意識した。また、神経系まるごとのモデリングでは、ノイズ推定法、(偏)相関係数、秩序パラメータによる同期・非同期解析、クラスタリング解析、因果性解析、グラフ構造解析などを併用し、神経活動データ群に対して時系列解析を行った。

実施内容・成果

1) 単一神経細胞のモデリング (石原グループと共同)

前述の石原グループによる単一神経細胞のカルシウムイメージングから、AWC 感覚神経では樹状突起や細胞体より感覚刺激受容器から一番遠い位置にある神経軸索の応答が最も早いことが分かった。この現象に対して、各種イオン濃度の電界拡散方程式と電荷保存則を用いた単一神経細胞モデルを構築・シミュレーションし、 K^+ (過分極因子) による速い膜電位の伝搬と電位依存性 Ca^{2+} チャンネルの神経軸索上への偏った分布がその原因である可能性を示した (図 23)。この電界拡散方程式は、膜電位と種々のイオン濃度の時空間変化を無矛盾に扱うことができ、適用範囲も広い。

また、AWC ニューロンの匂い刺激応答に対する学習 (順応) の数理モデルを生体分子間の化学反応式に基づいて構築した。この数理モデルには異なる時間スケールの状態遷移ダイナミクスが複数共存し、既存文献の実験結果および石原グループによる短時間反復刺激入力の実験結果の双方を再現する (図 24)。この順応・学習モデルではシグナル伝達を生体分子の化学反応式で表現しているため、実験家と議論しやすい、変異体や薬剤を用いたウェット実験を提案しやすいという利点があり、汎用性も高い。シミュレーション結果は次のことを示唆す

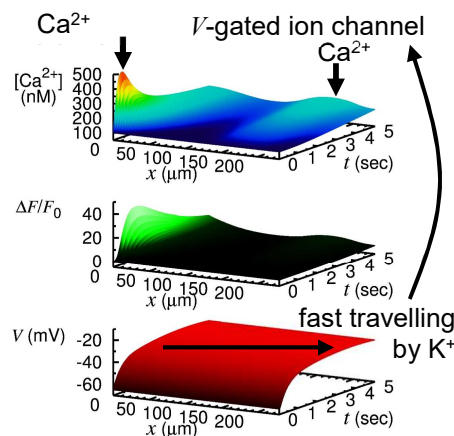


図 23. 電界拡散モデルによる Ca^{2+} 濃度、蛍光強度、膜電位の軸索に沿った時空間変化。

る。(1) GCAP (Guanylyl Cyclase Activating Protein) を介さない代謝型フィードバックで AWC ニューロンの数分間にわたる匂い学習 (順応) が再現可能である。(2) 刺激時間に比例した " $G_{\alpha}::G_{CYp}$ " の蓄積が学習によって積み上げられる情報の実体である。特に短時間刺激応答において、匂い刺激に対する一過性興奮と学習 (順応) は $[Ca^{2+}]$ 低下によって蓄積される " $G_{\alpha}::G_{CYp}$ " に依存して形成される。

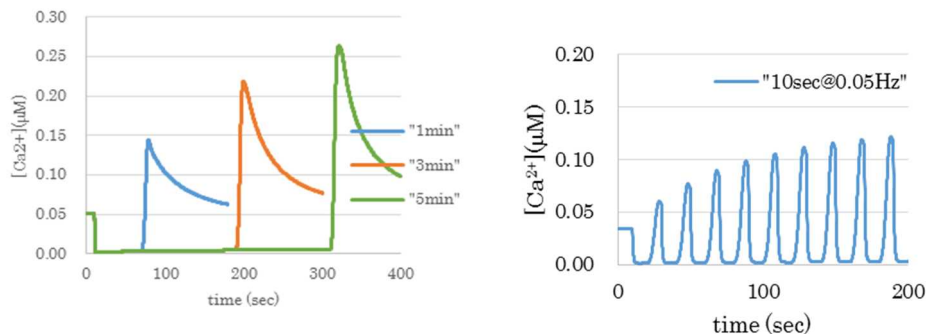


図 24. 匂い刺激に対するモデルニューロンの応答. 直前の刺激時間と一過性興奮の大きさの違い (左図) と連続した刺激 20 秒間隔で 10 秒間の刺激を入力した際の応答 (右図).

2) 特定の複数神経の測定とモデリング (飯野グループと共同)

感覚神経細胞とその下流数個の介在神経細胞からなる比較的小さな回路における神経活動を調べるための数理モデルを構築した。その際、神経細胞を点素子と捉えて抽象化するが、個々の神経細胞の特性を個別に扱えるようなパラメータは持たせ、実験データに定量的に合うようにそれらの値を決定する。様々なイオンチャネルを介しての正味の電流の膜電位特性 ($I-V$ 特性) のみに着目し、膜電位のみを状態変数とした。実験データと定量的に比較するために、 Ca^{2+} 濃度の膜電位依存性 ($[Ca^{2+}]-V$ 特性) を推定し、実験的に得られている蛍光強度曲線を併用することで膜電位 $\rightarrow$ カルシウムイオン濃度 $\rightarrow$ 蛍光強度と順に変換した。この点素子モデルの新規性は、神経回路のモデリングにおいて $[Ca^{2+}]-V$ 特性曲線を導入した点である。各神経細胞の膜電位変化、 Ca^{2+} 濃度変化、蛍光強度変化を定量的かつ minimal に扱うことのできる数理モデルであり、適用範囲も線虫の神経系に限定されない。

塩走性回路 (ASE 感覚神経とその下流の介在神経) にこの点素子神経モデルを適用し、飯野グループのイメージングデータを用いて各神経細胞の特性や膜電位、各化学シナプスの極性を推定した (図 25)。

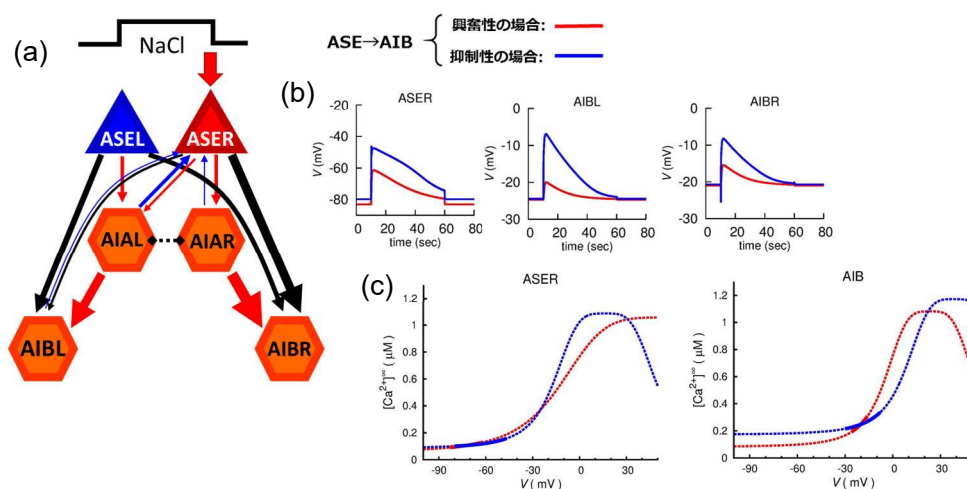


図 25. 塩走性回路 (a) における各神経細胞の膜電位 (b)、および $[Ca^{2+}]-V$ 特性 (c)。

3) 神経系まるごとの測定とモデリング (飯野グループ、石原グループ、吉田グループと共同)

A) ベイズ推定法を用いたノイズ除去: イメージングデータの中には、かなり noisy と思われるものと

そうでないものが混在している。しかもそれらはニューロンごとに異なっているだけでなく、刺激の有無、野生型/変異体などの実験条件によっても変わる。また、ノイズ除去の方法/程度によって相関係数や因果推定などの時系列解析の結果が変わる。そこで、ベイズ推定法により統一した基準のもとでノイズ除去を行った。ベイズ推定法ではノイズ除去後の時系列値だけでなく、ノイズの大きさや fitting の滑らかさなどのハイパーパラメータも同時に推定することができる。

B) 神経活動全体の位相同期解析: 図 26 のように位相同期解析には2種類ある。どちらの場合も時系列データを Hilbert 変換することで算出した“瞬間位相”の値をもとに解析を行った。

- 集団としての位相同期(図 26 の赤枠): ある時刻の位相が集団としてどの程度揃っているかを測るもので、“phase coherence”という言葉が使われる。 j 番目のニューロンの時刻 t_n における瞬間位相 $\theta(t_n)$ の集団平均から計算される Daido 秩序パラメータ(一般化された Kuramoto 秩序パラメータ) $R_k(t_n)$ により同期の程度を定量化した。Daido 秩序パラメータは変数 k を持ち、 k 回対称の位相同期を調べることができる。
- 時間方向の位相同期(図 26 の黒枠): 2つの位相の時間変化がどの程度揃っているかを測るもので、位相差の値そのものは気にしない。そのため“phase locking”という言葉が使われる。2つの瞬間位相の差の時間平均から計算される phase locking index により同期の程度を定量化した。

石原グループから提供された野生型、*unc-7* 変異体(ギャップ結合が機能不全)、*unc-13* 変異体(化学シナプス結合が機能不全)におけるイメージングデータを解析した結果、変異体では野生型より同期の程度が低くなっていることが分かった。

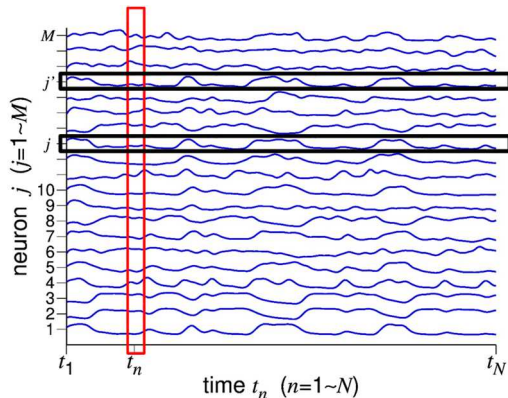


図 26. 神経活動の位相解析. ある時刻の位相が集団としてどの程度揃っているかという解析(赤枠)と2つの位相の時間変化がどの程度揃っているという解析(黒枠)がある。

C) Spectral Clustering による神経活動のクラスティング解析: Spectral Clustering は主成分分析や特異値分解のように次元を有効圧縮してからクラスティングするので、k-means 法のように同サイズのクラスタに分割する傾向があるという問題がない。また、クラスティング結果を視覚的にとらえるために、多次元尺度構成法により低次元空間にニューロンを配置させた。その際、Spectral Clustering の最大固有ベクトルを基に多次元尺度構成法の“距離”を計算した。飯野グループのアノテーションされたイメージングデータを4つ、および5つの類似クラスタに分類したときの結果を図 27 に示す。神経活動は、互いに同期している2ないし3の小クラスタ群、それらの逆位相になっているクラスタ、そのどちらにも分類されないクラスタの3種類にきれいに大別された。同じクラスタ内のニューロン間の相関は高く、異なるクラスタ間の相関は低くなっている。また、神経活動間の相関の強さとシナプス結合数とは必ずしも一致しないことが分かった。化学シナプスやギャップ結合が多数存在するシナプス経路が、特定の行動時に実際に使われているとは限らない。この結果を論文として発表した(Sakuma et al. NOLTA 2016)。

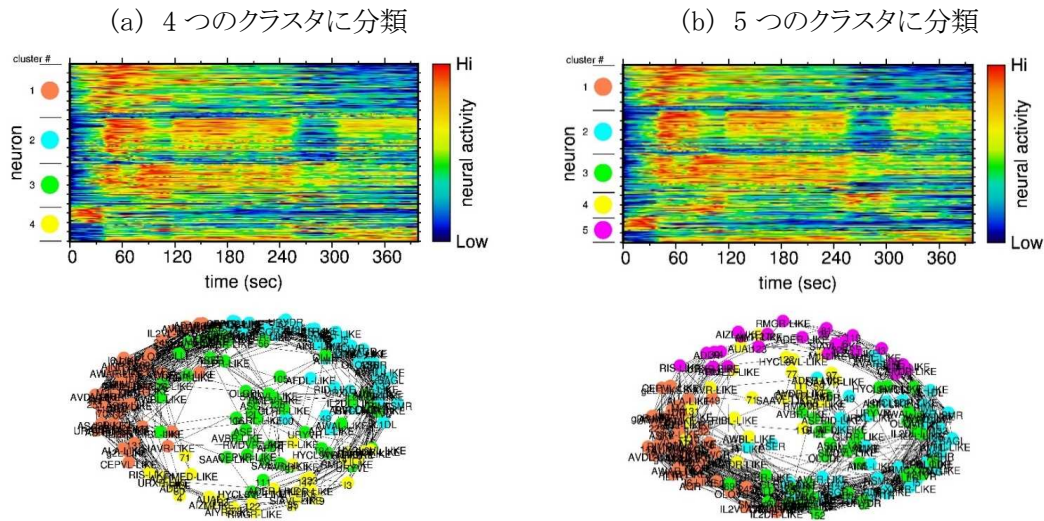


図 27. 野生型でのイメージングデータに対する Spectral Clustering の結果(上図). 下図は多次元尺度構成法によるニューロンの2次元空間への配置. 同じクラスタに属するニューロンには同じ色を付けた. 相関係数の絶対値が 0.7 以上のニューロンペア間には線を引いた.

D) 因果性解析およびグラフ構造解析: イメージングデータに対して、相関係数解析、グレンジャー因果性解析、Graph Laplacian を用いたグラフ構造解析を行った。

- Graph Laplacian とランダムウォーク理論に基づいたグラフ構造推定法を用い、ニューロン間の結合の有無を推定した。この手法は時系列データだけからハイパーパラメータなしにグラフ構造を推定することができる。線虫の頭部に存在するニューロンにおいて、化学シナプス結合あるいはギャップ結合が1本以上存在するニューロンペアは全体の約 8.3%である。それに対してイメージングデータから推定されたニューロン間の結合割合は野生型で 23.8%、*unc-7* 変異体で 40.5%、*unc-13* 変異体で 18.1%であった。ギャップ結合が機能不全である *unc-7* 変異体での割合が最も高いこの結果は生物学的にうまく説明できない。このグラフ構造推定法ではニューロン数が多い場合、データから推定される真に最適なグラフ構造を決定するのに膨大な計算時間がかかるため、近似的な探索法を用いた。しかしそれが有効でなかった可能性があり、アルゴリズムの改良が必要である。
- 飯野グループのアノテーションされたイメージングデータに対して相関係数の構造、グレンジャー因果性の構造、線虫のシナプス結合の構造を比較したところ、これら3つの構造間の相関は全体としてはそれほど高くはないことが分かった(図 28)。部分的には類似した構造が見られるが、同一実験条件下にもかかわらず個体差がある(図 29)。また、同じ個体でもニューロン間の相関性・因果性が常に高い部分と、時間的に変化する部分がある。相関係数やグレンジャー因果性は線形の関係式による解析なので、それらの結果の扱いには注意が必要である。しかし、このような神経ネットワークの部分的な動的繋ぎ替えがどのようにして起こるのかは神経科学一般の問題として興味深い。研究期間終了までに、線虫の電気生理実験で知られている bistable な膜電位特性(I-V特性)にノイズ項を加えた確率微分方程式による神経数理モデル(上記数理モデルの発展型)を用いてその機構を解明する予定である。

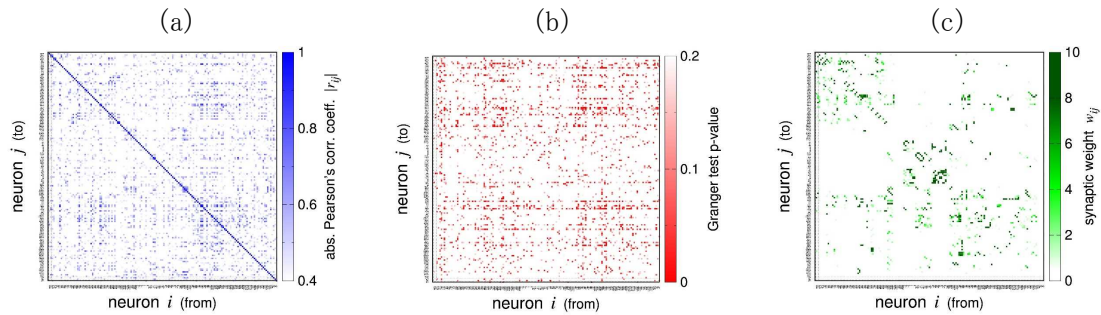


図 28. イメージングデータに対する相関係数の構造(a)、グレンジャー因果性の構造(b)、線虫のシナプス結合の構造(c)。

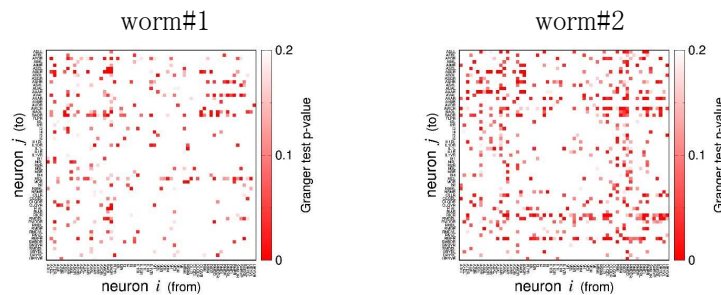


図 29. グレンジャー因果性の構造の個体差。

3. 4 4D イメージングデータに基づく神経細胞ネットワークの構造推定(統計数理研究所 吉田グループ)

(1)研究実施内容及び成果

本グループはデータ科学の専門性を有するメンバーから構成される。プロジェクトのドライビングフォースを担う画像解析手法(細胞検出、トラッキング、細胞名同定等)を中心に研究を展開した。主な目的は、4D イメージングのデータから神経活動の定量化(ニューロン毎の時系列データの取得)を行うことである。研究実施項目と研究成果は、以下の通りである。

1) 細胞検出とセグメンテーション

共焦点顕微鏡の画像に映し出された 100~200 個程度の細胞核の中心座標と領域を検出する。この目的を達成するために、画像のカーネル密度変換と Repulsive Parallel Hill-Climbing という最適化アルゴリズム(並列型の勾配法)を組み合わせた解析ツールを開発した(図 30)。これを用いて細胞核の中心位置を検出し、領域増大法を適用して細胞の輪郭を同定する。

2) 細胞追跡アルゴリズム

全神経細胞の核で発現する mCherry の赤色蛍光をターゲットに画像内を移動する細胞の位置を追跡する。核の形状は細胞間で多少の違いはあるが、視覚的に違いを識別することは極めて難しい。また、頭部に多数の神経細胞が密集しており、計測中に線虫が不規則に動くため、密集した細胞集団の位置は複雑な時間変化を示す。したがって、各細胞の活動状態を算出するには、形状均一性が高い 100~200 個の密集するオブジェクトを追跡可能なトラッキング技術が必要となる。我々は、マルコフ確率場と呼ばれるグラフィカルモデリングのテクニックを用いて細胞位置の時空間遷移を表現する確率モデルを作り、トラッカーの置換や併合を回避しながら多数の細胞を追跡するアルゴリズムを開発した。同定された各時刻の細胞核の中心位置から細胞領域を分画し、分画領域の輝度から神経活動のレベルを算出する。このトラッキングアルゴリズムと上述の細胞検出・セグメンテーション手法をプログラム ImageClimber に実装し、

Tokunaga et al., Bioinformatics, 2014 にて発表した (図 31)。

さらに、ImageClimber の発展版として、粒子フィルタと呼ばれるテクニックを用いた細胞追跡アルゴリズムを開発し、ソフトウェア SPF-CellTracker を公開した (図 32)。論文 (プレプリント) とソフトウェア公開サイトを以下に記す。

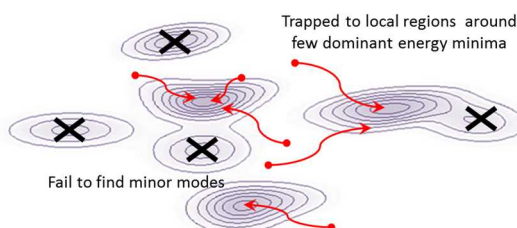
- Osamu Hirose, Shotaro Kawaguchi, Terumasa Tokunaga, Yu Toyoshima, Takayuki Teramoto, Sayuri Kuge, Takeshi Ishihara, Yuichi Iino, Ryo Yoshida, SPF-CellTracker: Tracking multiple cells with strongly-correlated moves using a spatial particle filter, arXiv, arXiv:1508.06464, 2015.
- 細胞追跡ソフトウェア SPF-CellTracker: <http://github.com/ohirose/spf>

これらの手法を運用する過程で追跡精度と計算速度の両面において SPF-CellTracker の性能が ImageClimber を大きく上回ることが判明した。現在は、両手法を併用することもあるが、性能安定性の観点から細胞追跡においては SPF-CellTracker が主力ツールとなっている。

Independent search

Many trajectories are absorbed to the regions with high masses

Fail to detect minor peaks



RPHC algorithm

Repulsion is acted when different trajectories are close each other

Diverse local maxima

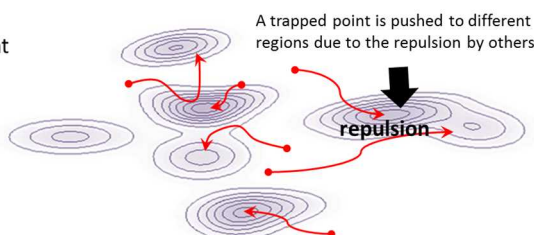


図 30: 細胞検出アルゴリズム RPHC のアウトライン

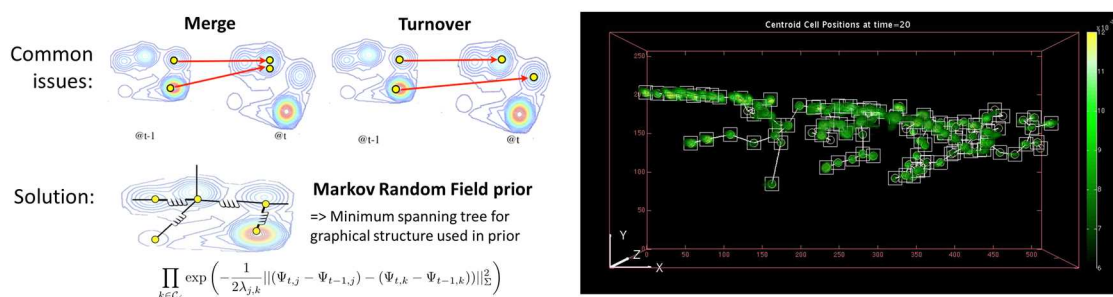


図 31: 細胞追跡アルゴリズム ImageClimber のアウトライン

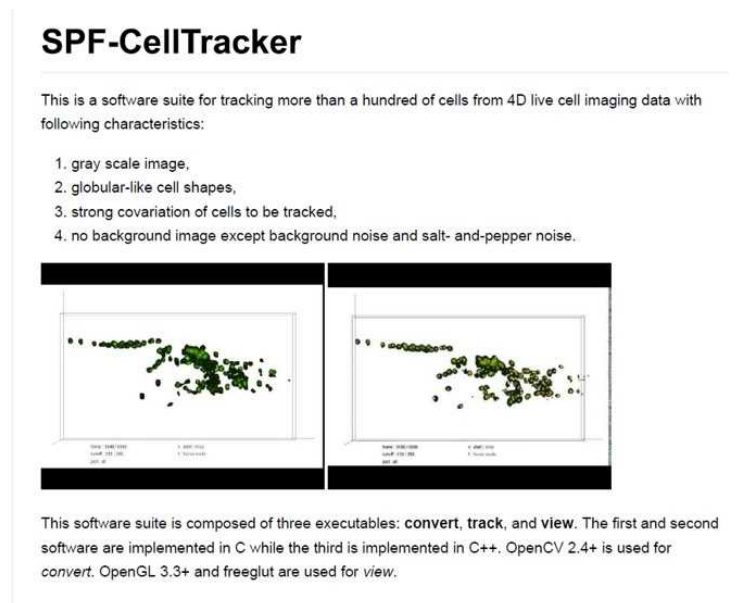


図 32: 細胞追跡ソフトウェア SPF-CellTracker の公開ウェブサイト (GitHub)

3) 細胞名同定(アノテーション)

検出された細胞の名前が決まれば、画像から算出された神経活動のデータを既知の神経ネットワークに対応付けることができ、これによりネットワーク上の情報伝達の流れを解析することができる。細胞名を同定するタスクをアノテーションと呼ぶ。

Is[H20p::mCherry]株に細胞特異的プロモーターで YC を発現させた株の共焦点画像を取得し、マニュアルアノテーションで一部の細胞に名前を付けた約 190 個のレファレンスデータを作成した(飯野グループ:図 33)。これらの中から無作為にサンプルセットを抽出し、名前が付与された細胞を繋ぎ合わせて、全細胞の名前が入った数万個の仮想アトラス群を作成した。これらの仮想アトラスは、細胞配置の個体間不均一性を模倣したものである。細胞名が未知のデータと個々のアトラス間で相対的位置関係に基づく点群マッチング(point cloud matching)を実行し、細胞名を推定する。さらに、集合知アルゴリズムを適用して、数百万個のアトラスのマッチング結果を統合し、最終的な細胞名を導く(図 34)。現在、論文の投稿準備を進めている。プレプリントを bioRxiv で公開している。

Stephen Wu, Yu Toyoshima, Moon Sun Jang, Manami Kanamori, Yuishi Iwasaki, Takeshi Ishihara, Yuichi Iino, Ryo Yoshida. An ensemble learning approach to auto-annotation for whole-brain *C. elegans* imaging, *bioRxiv*, BIORXIV/2017/180430, 2017

テストデータを用いてアノテーションアルゴリズムの検証実験を行い、約 70-85%の精度で細胞名を推定できることを確認した。しかしながら、検証用データには細胞の欠損がないが、実際は一部の細胞が検出できないことが多々あり、そのようなケースで推定精度が大幅に低下することが確認された。したがって、現時点においてはアノテーションの完全自動化は実現できておらず、飯野グループの Roiedit3D のインターフェース上でヒューマンアノテータの作業支援ツールとして活用されている(図 35)。

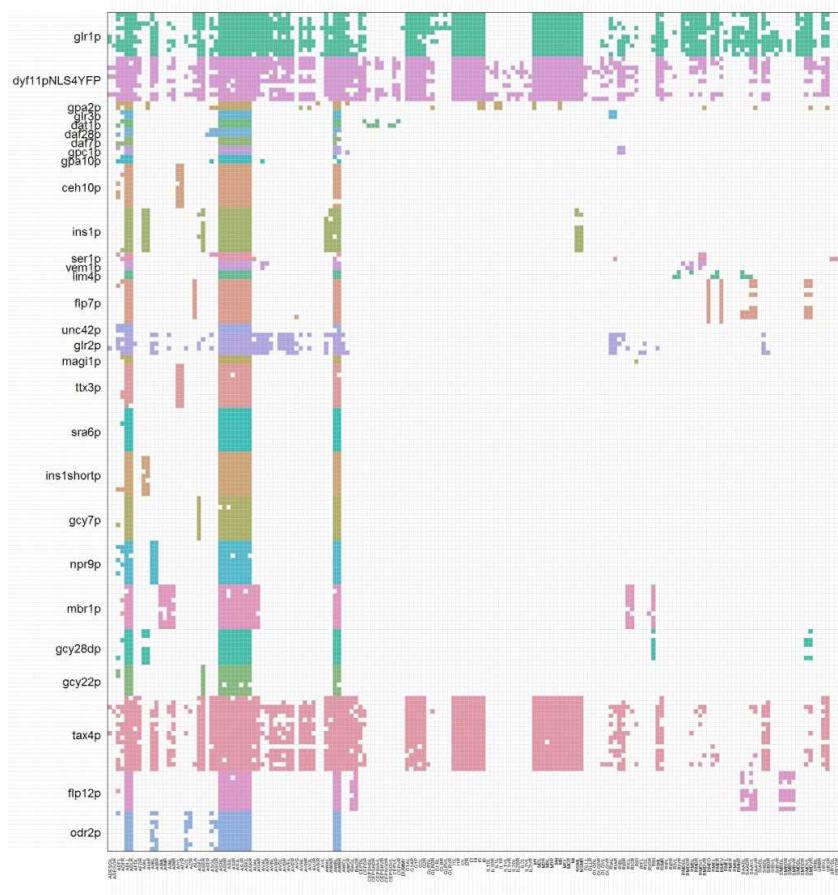


図 33: マニュアルアノテーションにより部分的に細胞名(横軸)が付与された189個のリファレンスサンプル(縦軸)

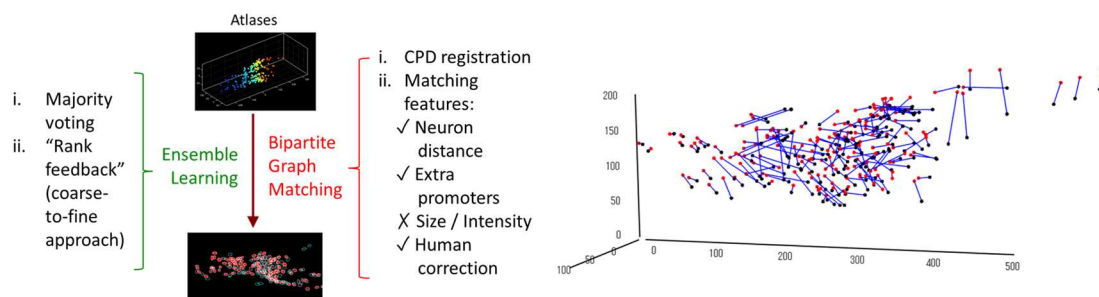


図 34: 二部グラフマッチングとアンサンブル学習に基づく細胞名の同定

Roiedit3D + annotation

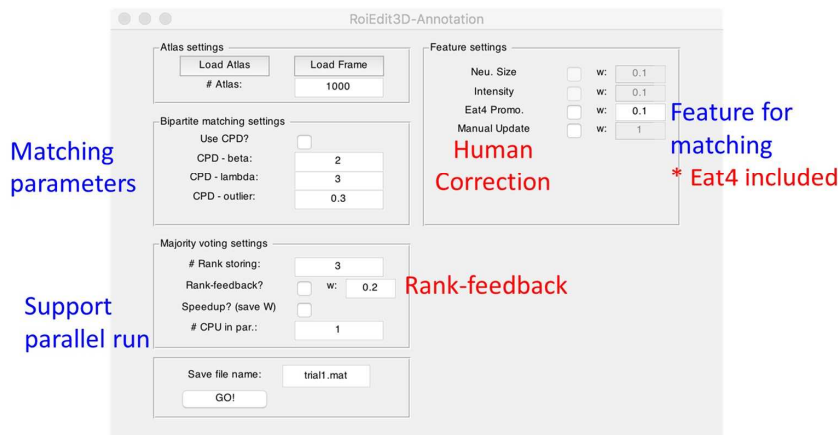


図 35: アノテーションアルゴリズムの Roiedit3D への実装

4) イメージレジストレーション

異なる画像を共通の座標系に変換する画像処理をイメージレジストレーションと呼ぶ。本研究では、異なるデータを比較する際に線虫の姿勢の違いや細胞配置の個体差が大きな問題になる。そこで、姿勢の違いや個体差を補正する上でイメージレジストレーションの解析技術が重要な役割を担う。従来の非剛体イメージアライメント法では、画像空間上に画像の局所空間変形の度合いを決める制御点を等方配置し、B スプライン関数などを用いて滑らかさを保持しつつ参照・ターゲット画像間の非剛体変換を行い、制御点配置を勾配法などで反復的に最適化する。しかしながら、最小化すべき目的関数の勾配や曲率が複雑な形になることから、オイラー法などの差分に基づき更新方向が決められるため、最適化プロセスが安定しない。本研究では、カーネル密度関数の局所的空間変形と EM アルゴリズムのアイデアを用いて、高精度に位置合わせを行うイメージアライメント手法を開発した。

5) 9 pipe(石原グループ)

ImageClimber と SPF-CellTracker を石原グループのデータ解析パイプライン 9 pipe に実装した。

6) Roiedit 3D(飯野グループ)

開発した細胞名同定プログラムを飯野グループのソフトウェア Roiedit3D に実装し、ヒューマンアノテーターが GUI 上でインタラクティブに作業を行える環境を構築した。

§ 4 成果発表等

(1) 原著論文発表 (国内(和文)誌 1 件、国際(欧文)誌 14 件)

1. 著者、論文タイトル、掲載誌 巻、号、発行年

< 国際(欧文)誌 >

1. Kunitomo H, Sato H, Iwata R, Satoh Y, Ohno H, Yamada K and Iino Y(2013) oncentration memory-dependent synaptic plasticity of a taste circuit regulates salt concentration chemotaxis in *Caenorhabditis elegans*. Nature Communications, 4(2210):1-11.
2. Yamashita H, Higuchi T, Yoshida R (2014) Atom environment kernels on molecules. J Chem Inf Model 54(5):1289-1300.
3. Tokunaga T, Hirose O, Kawaguchi S, Toyoshima Y, Teramoto T, Ikebata H, Kuge S, Ishihara T, Iino Y, Yoshida R (2014) Automated detection and tracking of many cells by using 4D live-cell imaging data. Bioinform 30(12):i43-51.
4. Ohno H, Kato S, Naito Y, Kunitomo H, Tomioka M and Iino Y(2014)Role of synaptic phosphatidylinositol 3-kinase in a behavioral learning response in *C. elegans*. Science 345(6194):313-7.
5. Satoh Y, Sato Y, Kunitomo H, Fei X, Hashimoto K and Iino Y(2014)Regulation of experience-dependent bidirectional chemotaxis by a neural circuit switch in *Caenorhabditis elegans*. J Neurosci. 34(47):15631-7.
6. Fujiwara M, Hino T, Miyamoto R, Inada H, Mori I, Koga M, Miyahara K, Ohshima Y, Ishihara T(2015)The Importance of cGMP Signaling in Sensory Cilia for Body Size Regulation in *Caenorhabditis elegans*. Genetics 201:1497-1510.
7. Kato H. E, Inoue K, Abe-Yoshizumi R, Kato Y, Ono H, Konno M, Hososhima S, Ishizuka T, Hoque M. R, Kunitomo H, Ito J, Yoshizawa S, Yamashita K, Takemoto M, Nishizawa T, Taniguchi R, Kogure K, Maturana A. D, Iino Y, Yawo H, Ishitani R, Kandori H & Nureki O (2015)Structural basis for Na⁺ transport mechanism by a light-driven Na⁺ pump. Nature 521:48–U347.
8. Ikebata H, Yoshida R (2015) Repulsive parallel MCMC algorithm for discovering diverse motifs from large sequence sets. Bioinform 31(10):1561-1568.
9. Fujiwara M, Aoyama I, Hino T, Teramoto T, Ishihara T(2016) Gonadal maturation changes chemotaxis behavior and neural processing in the olfactory circuit of *Caenorhabditis elegans*. Current Biology 26:1522-1531.
10. Toyoshima Y, Tokunaga T, Hirose O, Kanamori M, Teramoto T, Jang MS, Kuge S, Ishihara T, Yoshida R, Iino Y (2016) Accurate Automatic Detection of Densely Distributed Cell Nuclei in 3D Space. PLoS Comput Biol 12(6):e1004970.
11. Sakuma H, Teramoto T, Kuge S, Ishihara T and Iwasaki Y(2016)Large Graph Laplacian Matrix and Functional Map of Whole Brain of *C. elegans*. Proceedings of 2016 International Symposium on Nonlinear Theory and Its Applications, (1068):696-699.
12. Wang L, Sato H, Satoh Y, Tomioka M, Kunitomo H and Iino Y(2017)A Gustatory Neural Circuit of *Caenorhabditis elegans* Generates Memory-Dependent Behaviors in Na(+) Chemotaxis. Journal of Neuroscience 37(8):2097-2111.
13. Sakai N, Ohno H, Tomioka M , Iino Y(2017)The intestinal TORC2 signaling pathway contributes to associative learning in *Caenorhabditis elegans*. PLOS ONE 12(5):e0177900.
14. Ohno H, Sakai N, Adachi T and Iino Y(2017)Dynamics of Presynaptic Diacylglycerol in a Sensory Neuron Encode Differences Between Past and

- Current Stimulus Intensity. Cell Reports 20(10): 2294-2303
15. Hirose O, Kawaguchi S, Tokunaga T, Toyoshima Y, Teramoto T, Kuge S, Ishihara T, Iino Y, Yoshida R (2017) SPF-CellTracker: Tracking multiple cells with strongly-correlated moves using a spatial particle filter. IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics PP(99):1-1.
 16. Kitazono T, Hara-Kuge S, Matsuda O, Inoue A, Fujiwara M, Ishihara T.(2017)Multiple Signaling Pathways Coordinately Regulate Forgetting of Olfactory Adaptation through Control of Sensory Responses in *Caenorhabditis elegans*.J Neurosci. 10240-10251
 17. Hara-Kuge S., Nishihara T., Matsuda T., Kitazono T., Teramoto T., Nagai T. and Ishihara T.(2018) An improved inverse-type Ca²⁺ indicator can detect putative neuronal inhibition in *Caenorhabditis elegans* by increasing signal intensity upon Ca²⁺ decrease. Plos one (in press)

<国内(和文)誌>

1. 徳永旭将, 吉田亮, 岩崎唯史 (2014) データ同化によって線虫の神経系をまるごと読み解く〜現状と課題. シミュレーション 3(4):31-38.

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. 酒井奈緒子・飯野雄一(2014)異性のいる環境が忘れられない? ―線虫の異性学習―. In:Aroma Research, 15(2):42-43
2. 大野速雄・飯野雄一(2014)線虫の学習行動におけるシナプスでのインスリン-PI3 キナーゼ経路の役割.ライフサイエンス新着論文レビュー(オンライン <http://first.lifesciencedb.jp/archives/9142>)
3. 大野速雄・富岡征大・飯野雄一(2014)カルシニンに依存したシナプス領域のインスリン/PI3K 経路の活性化が線虫の学習を制御する.実験医学.32(19): 3094-7.
4. 富岡征大・飯野雄一(2015)シナプスにおけるインスリン/PI3K 経路と記憶学習ーインスリン経路が線虫の味覚学習を制御する仕組みー.In:糖尿病学2015(門脇孝編) p.45-52,東京:診断と治療社
5. 山田康嗣、酒井奈緒子、飯野雄一(2016) 個体間相互作用による線虫の匂いや味の嗜好性の変化.In:生きものたちをつなぐ「かおり」〜エコロジカルボラタイルズ〜(松井健二・高林純示・東原和成編) p.099-109,東京:フレグランスジャーナル社
6. 豊島有・飯野雄一(2017) 密集した多数の神経細胞の活動を同時に測定する自動画像解析技術の開発. In:生物物理, 57(1): 20-23
7. 豊島 有(2017) 線虫の 4D イメージング画像処理. In:生体の科学, 68(5) 474-475
8. 豊島有(2017) 神経応答のモデリング - Ca²⁺イメージングを用いて. In:実験医学, 35(5):875-878
9. 吉田亮(2017)人工知能学大事典(人工知能学会編) 分担執筆:バイオイメージング

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 26 件、国際会議 16 件)

<国際>

1. Yoshida R. Bayesian Statistics for Designing Systems, Molecules and Others, Forum Math-for-Industry 2013 -The Impact of Applications on Mathematics, Fukuoka, Japan, 2013/11/5.
2. Yoshida R. Bayesian Statistics for Data Assimilation, Cooperation of Computation Materials Science and Mathematics toward Smart Materials Design, Tokyo, Japan, 2014/1/7.

3. Ishihara T, Inoue A, Sawatari E, Kitazono T, Fujiwara M, Teramoto T. Active forgetting of the olfactory memory in *C. elegans*. NEUROBIOLOGY: DIVERSE SPECIES & CONSERVED PRINCIPLES, Cold Spring Harbor Conferences Asia Cold Spring Harbor Laboratory Suzhou China, 2014/9/18
4. Iino Y. Axonal transport of insulin receptor in the salt-sensing neuron mediates taste avoidance learning in *C. elegans*. The 12th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception, Fukuoka, 2014/11/3
5. Iino Y. Memory formation by axonal transport of an insulin receptor isoform in *Caenorhabditis elegans*. AND Mini Conference, 熱海, 2015/1/22
6. Iino Y. Molecular and Neural Circuit Mechanisms for Experience-Dependent Modulation of Chemotaxis. Gordon Research Conference "Modulation of Neural Circuits & Behavior", The Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong, 2015/6/25
7. Hirose O. SPF-CellTracker: Tracking multiple cells with strongly-correlated moves using a spatial particle filter, GIW/InCoB 2015, Tokyo, Japan, 2015/9/11
8. Hirose O. SPF-CellTracker: Tracking multiple cells with strongly-correlated moves using a spatial particle filter, BioImage Informatics Conference 2015, Maryland, US, 2015/10/14
9. 飯野雄一. Decoding chemical gradient by a simple neural circuit. 17th International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT2016), パシフィコ横浜, 2016/6/6
10. 石原健. Whole brain imaging reveals the roles of gap junctions for the synchronized oscillatory activity. CeNeuro 2016, 名古屋大学, 2016/7/30
11. 飯野雄一. Molecules and the neural circuit for switching the chemosensory behavior in *C. elegans*. NSF-AMED Workshop: Comparative Principles of Brain Architecture and Functions, Marriott Marquis San Diego Marina, San Diego, 2016/11/18
12. 富岡征大. Role of the insulin-like signaling pathway in learning in *C. elegans*. Gordon Research Conferences IGF & Insulin System in Physiology & Disease, Ventura Beach Marriott (Ventura, CA) 2017/3/15
13. Wu S. Whole neural network analysis of *C. elegans* using an automated image processing pipeline, International Workshop on Quantitative Biology 2017, Yokohama, Japan, 2017/4/14.
14. IINO Y. Molecular and neural circuit mechanisms for experience-dependent behavioral switching in *C. elegans*. 37th Blankenese Conference, the Elsa-Brändström-Haus (Hamburg, Germany), 2017/5/9
15. IINO Y. How taste preference is modulated in the nematode. The 16th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception, Kyushu University (Fukuoka, Japan), 2017/11/4
16. IINO Y. Understanding the mechanisms underlying learning in *C. elegans*. The 2nd Indian *C. elegans* Meeting, National Institute of Immunology (New Delhi, India), 2018/2/25

<国内>

1. 吉田亮(統数研)、ビッグデータ時代のバイオサイエンスと機械学習、情報処理学会 連続セミナー2012 第5回ビッグデータに立ち向かう機械学習、東京 化学会館、

2012 年 11 月 19 日

2. 吉田亮(統数研)、ベイズ統計学に基づく医薬品化合物/生化学反応システムの設計、日本機械学会計算力学部門 設計情報学研究会、京都 京都白河院、2013 年 3 月 10-11 日
3. 飯野雄一(東大)、國友博文、大野速雄、佐藤博文、佐藤陽介、土屋純一、山田康嗣、加藤紳也、内藤泰樹、富岡征大。線虫の味覚可塑性とその機構。Neuro2013、国立京都国際会館、2013/6/20
4. 飯野雄一(東大)、大野速雄、佐藤博文、佐藤陽介、富岡征大、國友博文。線虫の化学走性の可塑性の分子神経機構。日本動物学会第 84 回大会、岡山大学、2013/9/26
5. 寺本孝行(九大)、石原健。C. elegans の中枢神経系まるごとのカルシウムイメージングに向けて。包括的脳科学研究推進支援ネットワーク平成 25 年度夏のワークショップ、名古屋国際会議場、2013/9/1
6. 吉田亮(統数研)、ベイズ統計学入門：システムズバイオロジー、分子設計、バイオイメージングの応用例を中心に、生命機能数理モデル検討会、大阪 大阪大学免疫学フロンティア研究センター、2013 年 12 月 18 日
7. 吉田亮(統数研)、ライフサイエンスにおけるベイズ統計学の戦略的応用分野の開拓、第一回腫瘍分子生物学・生命情報共同セミナー、金沢 金沢大学、2014 年 3 月 19 日
8. 徳永旭将(九工大)、4次元動態計測データからの神経細胞活動度の自動定量化、第一回腫瘍分子生物学・生命情報共同セミナー、金沢 金沢大学、2014 年 3 月 19 日
9. 徳永旭将(九工大)、吉田亮、バイオイメージ解析におけるベイズ統計の応用、生命機能数理モデル検討会、大阪 大阪大学免疫学フロンティア研究センター、2014 年 5 月 28 日
10. 吉田亮(統数研)、ライフサイエンス分野におけるベイズ統計の進展と応用、データ科学の発展と植物科学との融合、東京 東京大学中島薫一郎記念ホール、2014 年 11 月 28 日
11. 寺本孝行(九大)、吉田亮、線虫中枢神経系のまるごと計測および定量解析に向けた取り組み、定量生物学の会第七回年会、福岡 九州大学筑紫キャンパス、2015 年 1 月 11 日
12. 吉田亮(統数研)、ライフサイエンス分野におけるベイズ統計の先端応用、バイオスーパーコンピューティング研究会ウィンタースクール 2015、愛知 休暇村伊良湖、2015 年 1 月 30 日
13. 吉田亮(統数研)、ライフサイエンス分野におけるベイズ統計の先進応用、第 7 回ミニ数理デザイン道場、東京 東京大学大学院医学系研究科、2015 年 2 月 19 日
14. 飯野雄一(東大)。線虫の学習による化学感覚入力に対する神経応答と行動の変化。日本解剖学会・生理学会合同大会、神戸国際会議場、2015/3/22
15. 吉田亮(統数研)、ライフサイエンス分野における統計科学の先進応用、東京大学医科学研究所 学友会セミナー、東京 東京大学医科学研究所、2015 年 8 月 31 日
16. 吉田亮(統数研)、生命科学におけるデータサイエンス駆動型アプローチの開拓と実践、文部科学省委託事業数学協働プログラム がんゲノムの情報と数理、東京 東京大学医科学研究所、2015 年 9 月 30 日
17. 吉田亮(統数研)、ライフサイエンスにおけるベイズ統計の先端応用、名古屋大学大学院医学系研究科 基盤医学特論 オミクス解析学プログラム、名古屋 名古屋大学大学院医学系研究科、2015 年 10 月 7 日
18. 吉田亮(統数研)、統計的機械学習に基づくライフサイエンスの方法論、京都大学大学院医学研究科医学統計生物情報学 第 21 回 Statistical Bioinformatics Seminar、京都 京都大学大学院医学研究科、2015 年 10 月 21 日

19. 吉田亮(統数研)、バイオイメージ・インフォマティクスの諸問題、CAVE 研究会、東京 統計数理研究所、2016 年 1 月 14 日
20. 吉田亮(統数研)、生命科学におけるベイズ統計の先端応用、第 68 回日本細胞生物学会大会、京都 京都テルサ、2016 年 6 月 16 日
21. 飯野雄一(東大).餌と個体間コミュニケーションによる線虫の行動決定の機構.第 46 回日本神経精神薬理学会年会,COEX(ソウル市),2016/7/2
22. Jang Moon-Sun(東大).Identification of neurons analysis of the neuronal circuit involved in the learned salt-avoidance behavior in *C. elegans*.第 54 回 日本生物物理学会,つくば国際会議場,2016/11/27
23. 石原健(九大).線虫の中枢神経系全体のカルシウムイメージングによる神経回路メカニズムの解析.生命動態システム科学四拠点・CREST・PRESTO・QBiC 合同シンポジウム 2017,理化学研究所 生命システム研究センター,2017/3/18
24. 吉田亮(統数研). 機械学習によるデータ駆動型サイエンス:現状と展望. 第 55 回日本生物物理学会年会、熊本(熊本大学 黒髪北地区)、2017/9
25. 吉田亮(統数研). データ科学がもたらす新しいサイエンス:外挿的予測と発見. 名古屋大学大学院医学系研究科 平成 29 年度基盤医学特論 特徴あるプログラムオミクス解析学プログラム, 名古屋(名古屋大学大学院), 2017/8
26. 飯野雄一(東大). 化学走性行動の先天的な機構と後天的な変化. 平成 29 年度生理学研究所研究会「先天的と後天的なメカニズムの融合による情動・行動の理解と制御」, 生理学研究所(岡崎市), 2017/10/10

② 口頭発表 (国内会議 33 件、国際会議 18 件)

<国際>

1. Yoshida R. Bayesian methods for making systems, molecules and others, Workshop on Applied Physics and Statistics for Quantitative Biology, Tokyo, Japan, 2012/11/26.
2. Yoshida R., Yamashita H, Iba Y, Higuchi T. Preimage Reconstruction of Molecules with a Graph Kernel, Joint Statistical Meeting 2013, Montreal, Canada, 2013/8/5.
3. Ikebata H, Yoshida R. Repulsive Parallel MCMC for Motif Discovery, Joint Statistical Meeting 2013, Montreal, Canada, 2013/8/5.
4. Teramoto T, Toyoshima Y, Tokunaga T, Yoshida R., Iino Y., Ishihara T. 4-D imaging of neuronal activities in the whole central nervous system visualizes correlative patterns between multiple neurons, 2014 *C. elegans* topic meeting: Neuronal Development, Synaptic Function and behavior, Wisconsin, USA, 2014/7/7.
5. Tokunaga T, Hirose O, Kawaguchi S, Toyoshima Y, Teramoto T, Ikebata H, Kuge S, Ishihara T., Iino Y., Yoshida R. Automated detection and tracking of many cells by using 4D live-cell imaging data, 22nd Annual International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology (ISMB2014), Boston, USA, 2014/7/14
6. Fujiwara M, Sato N, Maruyama S, Ishihara T. How does the animal change its behavioral patterns during growth? 2014 *C. elegans* Development, Cell Biology & Gene Expression Meeting in association with The 6th Asia-Pacific *C. elegans* Meeting, Nara, 2014/7/16
7. Tomioka M, Naito Y, Kuroyanagi H, Iino Y. Combinatorial expression of evolutionally conserved RNA binding proteins determines neuron-type specific alternative splicing of the *daf-2* insulin/IGF receptor. 2014 Development, Cell Biology & Gene Expression Meeting in association with

- The 6th Asia-Pacific *C. elegans* Meeting, Nara , 2014/7/17
8. Kunitomo H, Satoh Y, Sato H, Iino Y.. Dissecting the roles of primary interneurons that regulate memory-dependent navigation behavior in *C. elegans*. 2014 Cold Spring Harbor Asia Conference, Neurobiology: Diverse Species & Conserved Principles , Suzhou/China, 2014/9/17
 9. Teramoto T. Whole-brain imaging at cellular resolution reveals multi-neuronal dynamics under non-stimulus condition. *C. elegans* 2015 20th international meeting, University of California, LA , U.S.A., 2015/6/26
 10. Teramoto T. Whole-brain imaging of *C. elegans* reveals multi-neuronal dynamics under non-stimulus condition.第38回日本神経科学大会シンポジウム, 神戸国際会議場, 2015/6/26
 11. Kunitomo H. Dissecting the roles of primary interneurons that regulate memory-dependent salt concentration chemotaxis. 20th International *C. elegans* Meeting, UCLA, Los Angeles, 2015/6/25
 12. Iwasaki Y. Directed graph of whole-brain imaging recordings: neural signaling and phase synchronization. 7th Asia-Pacific *C. elegans* Meeting, Beijing Friendship Hotel, China, 2016/6/28
 13. Kuge S. An inverse-type fluorescent Ca²⁺ indicator for detecting neuronal inhibition. CeNeuro2016 and Nagoya BNC, 名古屋大学豊田講堂, 2016/7/28
 14. Sakuma H. Large Graph Laplacian Matrix and Functional Map of Whole Brain of *C. elegans*. 2016 International Symposium on Nonlinear Theory and Its Applications, ニューウェルシティ湯河原, 2016/11/30
 15. Wu S. A machine learning pipeline for whole brain imaging of *Caenorhabditis elegans*: cell tracking, quantification, annotation and visualizations, BioImage Informatics Conference 2016, Singapore, 2016/10/11.
 16. Iwasaki Y. Neuronal signaling pathways estimated from whole-brain imaging data of *C. elegans*. 19th International Union of Pure and Applied Biophysics Congress, Edinburgh International Conference Center, Scotland, 2017/7/18.
 17. Yu Toyoshima, Stephen Wu, Hiroki Takizawa, Ken Sato, Terumasa Tokunaga, Osamu Hirose, Manami Kanamori, Hirofumi Sato, Takayuki Teramoto, Moon-Sun Jang, Sayuri Kuge, Hideharu Mikami, Keisuke Goda, Takeshi Ishihara, Ryo Yoshida, Yuichi Iino. Bio-image informatics for whole brain activity imaging of *C. elegans*. CREST symposium [COMPUTATIONAL PRINCIPLES OF THE NERVOUS SYSTEM], 東京大学本郷キャンパス 鉄門記念講堂 (東京都文京区), 2017/7/24
 18. Yu Toyoshima, Stephen Wu, Hiroki Takizawa, Ken Sato, Terumasa Tokunaga, Osamu Hirose, Manami Kanamori, Hirofumi Sato, Takayuki Teramoto, Moon-Sun Jang, Sayuri Kuge, Hideharu Mikami, Keisuke Goda, Takeshi Ishihara, Ryo Yoshida, Yuichi Iino. Bio-image informatics for whole brain activity imaging. 新学術領域「レゾナンスバイオ」若手の会 Joint Young Researchers' Meeting at Academia Sinica, Academia Sinica (Taipei, Taiwan), 2017/11/1
 19. Yuichi Iwasaki. Causality analysis on whole-brain imaging data of *C. elegans*. CREST symposium [COMPUTATIONAL PRINCIPLES OF THE NERVOUS SYSTEM], 東京大学本郷キャンパス 鉄門記念講堂 (東京都文京区), 2017/7/24

<国内>

1. 吉田亮(統数研)、大規模化合物データに基づく創薬情報学の新しいかたち、情報・システム研究機構シンポジウム 2012 生命科学のビッグデータ革命ー仮想から現実へー、東京 一橋講堂、2012 年 11 月 9 日
2. 池端久貴(総研大)、吉田亮、Repulsive Parallel MCMC アルゴリズムによる塩基配列のモチーフ探索、2013 年度人工知能学会全国大会、富山 富山国際会議場、2013 年 6 月 4 日
3. 徳永旭将(九工大)、広瀬修、池端久貴、川口翔太郎、豊島有、佐藤博文、寺本孝行、久下小百合、石原健、飯野雄一、吉田亮、逐次的カーネル密度推定法を用いた神経細胞カルシウムイオン分布の定量化、2013 年度統計関連学会連合大会、大阪 大阪大学豊中キャンパス、2013 年 9 月 10 日
4. 池端久貴(総研大)、吉田亮、力学的反発力に基づく並列型マルコフ連鎖モンテカルロ法の提案、2013 年度統計関連学会連合大会、大阪 大阪大学豊中キャンパス、2013 年 9 月 10 日
5. 吉田亮(統数研)、ベイズ統計学とバイオサイエンスの協働、JST・CREST「生命動態の理解と制御のための基盤技術の創出」第 2 回領域会議、東京 日本科学未来館、2013 年 11 月 26 日
6. 広瀬修(金沢大)、川口翔太郎、徳永旭将、豊島有、寺本孝行、佐藤賢二、池端久貴、佐藤博文、久下小百合、石原健、飯野雄一、吉田亮、3 次元動画像内の非常に多数の細胞領域を自動追跡するための粒子フィルタ手法の開発、人工知能学会全国大会(第 28 回)、愛媛 愛媛県民文化会館、2014 年 5 月 13 日
7. 徳永旭将(九工大)、広瀬修、川口翔太郎、豊島有、寺本孝行、池端久貴、久下小百合、石原健、飯野雄一、吉田亮、形状均一性が高い密集した細胞集団の位置検出およびトラッキング、バイオイメージ・インフォマティクスワークショップ 2014、愛知 岡崎コンファレンスセンター、2014 年 6 月 10 日
8. 濱川 昌之(九大)、飯野 雄一、広津 崇亮、“時期特異的かつ細胞特異的な RNAi 法で明らかにする行動制御における Ras の働き”、第 37 回日本神経科学大会、パシフィコ横浜、2014/9/11
9. 北園 智弘(九大)、井上 明俊、石原 健、“線虫 *C.elegans* において、忘却を制御する TIR-1/JNK-1 経路の下流因子の解析”、第 37 回日本神経科学大会、パシフィコ横浜、2014/9/13
10. 池端久貴(総研大)、吉田亮、Repulsive Parallel MCMC アルゴリズムによる塩基配列のモチーフ探索、2014 年度統計関連学会連合大会、東京大学本郷キャンパス、2014 年 9 月 14 日
11. 広瀬修(金沢大)、徳永旭将、豊島有、寺本孝行、久下小百合、石原健、飯野雄一、吉田亮、4D ライブセルイメージングデータ内の非常に多数の細胞を自動追跡するための空間粒子フィルタ手法の開発、2014 年度統計関連学会連合大会、東京大学本郷キャンパス、2014 年 9 月 14 日
12. 徳永旭将(九工大)、広瀬修、吉田亮、カーネル密度関数の局所空間変形にもとづくイメージアライメント、2014 年度統計関連学会連合大会、東京大学本郷キャンパス、2014 年 9 月 14 日
13. 池端久貴(総研大)、吉田亮、Repulsive parallel MCMC algorithm for discovering diverse motifs from large sequence datasets、生命医薬情報学連合大会 2014、仙台国際センター、2014 年 10 月 3 日
14. 徳永旭将(九工大)、広瀬修、川口翔太郎、豊島有、寺本孝行、池端久貴、久下小百合、石原健、飯野雄一、吉田亮、Automated detection and tracking of many cells by using 4D live-cell imaging data、生命医薬情報学連合大会 2014、仙台国際センター、2014 年 10 月 3 日
15. 藤原学(九大)、線虫の感覚行動のライフサイクルにおける変化、第 38 回日本神

- 経科学大会、神戸国際会議場、2015/7/28
16. Takayuki Teramoto . Whole-brain Ca²⁺ imaging of *C. elegans* to explore the neuronal mechanisms for behavioral choice."International Symposium on Prediction and Decision Making 2015、東京大学、2015/7/29
 17. 久下 小百合(九大).抑制性神経活動を検出する消光型蛍光カルシウムプローブタンパク質.日本分子生物学会、神戸国際展示場、2015/12/4
 18. 広瀬修(金沢大)、徳永旭将、豊島有、寺本孝行、久下小百合、石原健、飯野雄一、吉田亮、空間粒子フィルタによる多数の細胞の同時追跡、バイオイメージ・インフォマティクス ワークショップ 2015、福岡 九州大学病院キャンパス、2015 年 6 月 19 日
 19. 広瀬修(九工大)、徳永旭将、豊島有、寺本孝行、久下小百合、石原健、飯野雄一、吉田亮、空間粒子フィルタによる多数の細胞の同時追跡、情報論的学習理論と機械学習研究会 (IBISML)、沖縄 沖縄科学技術大学院大学、2015 年 6 月 24 日
 20. Stephen Wu (統数研)、徳永旭将、広瀬修、豊島有、寺本孝行、石原健、飯野雄一、吉田亮、機械学習に基づく線虫 *C. elegans* の全脳イメージング解析、2016 年度統計関連学会連合大会、金沢 金沢大学角間キャンパス、2016 年 9 月 5 日.
 21. Stephen Wu (統数研)、徳永旭将、広瀬修、豊島有、寺本孝行、岩崎唯史、石原健、飯野雄一、吉田亮、Whole Brain Imaging of *Caenorhabditis Elegans* × Machine Learning、第 5 回 生命医薬情報学連合大会 (IIBMP2016)、東京 東京国際交流館プラザ平成、2016 年 9 月 30 日
 22. 池端久貴(総研大)、本郷研太、磯村哲、前園涼、吉田亮、Bayesian design of bioactive molecules with a chemical language model、第 5 回 生命医薬情報学連合大会 (IIBMP2016)、東京 東京国際交流館プラザ平成、2017 年 9 月 30 日
 23. 豊島 有(東大).全脳イメージングの自動解析に向けた要素技術について. 第 5 回 生命医薬情報学連合大会 (IIBMP2016)、東京国際交流館プラザ平成 (江東区)、2016/9/30.
 24. 岩崎唯史(茨城大)線虫の全脳活動データに対する位相解析」日本物理学会第 72 回年次大会、大阪大学(豊中キャンパス)、2017/3/17.
 25. 豊島 有(東大)、Stephen Wu、滝沢拓己、佐藤 研、徳永旭将、広瀬 修、金森真奈美、佐藤博文、寺本孝行、張 文瑄、久下小百合、三上秀治、合田圭介、石原 健、吉田 亮、飯野雄一. 機能的な全脳イメージングに必要な要素技術について. 新学術領域「レゾナンスバイオ」平成 29 年度班会議、北海道大学 創成研究機構 (札幌市)、2017/5/13.
 26. 豊島 有(東大)、佐藤 研、三上秀治、Stephen Wu、佐藤博文、張 文瑄、金森真奈美、滝沢拓己、大江 紗、寺本孝行、徳永旭将、広瀬 修、合田圭介、石原 健、吉田亮、飯野雄一. 線虫の塩走性行動の包括的理解に向けた全中枢神経活動と行動の高精度同時計測. 新学術領域研究「生物移動情報学」領域会議、東北大学 片平さくらホール (仙台市)、2017/6/3.
 27. 久下 小百合(九大)、西原 知伸、松田 知己、寺本 孝行、永井 健治、石原 健、「抑制性神経活動を検出する消光型蛍光カルシウムプローブタンパク質」、第 40 回日本神経科学大会、幕張メッセ、2017/7/20
 28. 大江 紗(九大)、勝目拓海、寺本孝行、豊島 有、徳永旭将、Wu Stephan、広瀬修、Moon-Sun Jang、佐藤博文、滝沢拓己、久下小百合、岩崎唯史、吉田 亮、飯野雄一、石原 健、「線虫の全脳イメージングによる行動を制御する情報処理機構の解析」、第 40 回日本神経科学大会、幕張メッセ、2017/7/21
 29. Tomioka M(東大)、Nagashima T、Goyashiki M、Iino Y. A versatile role of insulin-like signaling in learning behavior in *C. elegans*. 第 40 回 日本神経科学大会、幕張メッセ(千葉市)、2017/7/22

30. Kawamura Y, Koyama S, Yoshida R. Inverse prediction for transcription elongation rates with total RNA sequencing. 第6回生命医薬情報学連合大会 (IIBMP 2017), 札幌(北海道大学), 2017/9
31. 石原 健 (九大) 線虫における嗅覚記憶の忘却とその制御 情動研究会 生理学研究所 (岡崎市) 2017/10/11
32. 富岡征大 (東大)、永嶋 宇、後屋敷 舞、飯野雄一. 多彩なインスリン様シグナル伝達により制御される *C. elegans* の学習記憶. ConBio2017, 神戸ポートアイランド (神戸市), 2017/12/7
33. 岩崎唯史 (茨城大). 線虫の全中枢神経細胞活動データに対する因果性解析. 日本物理学会第73回年次大会, 東京理科大学・野田キャンパス (野田市), 2018/3/25.

③ ポスター発表 (国内会議 36 件、国際会議 40 件)

<国際>

1. Sato H, Kunitomo H, Oda S, Iino Y. A gustatory neural circuit for salt concentration memory in *Caenorhabditis elegans*. The 19th International C. elegans Meeting, University of California, Los Angeles, 2013/6/27
2. Teramoto T, Yamamoto Y, and Ishihara T. 4-D Ca²⁺ imaging of the multiple neurons in a local circuit regulating behavioral choice. 19th International C. elegans Meeting, University of California, Los Angeles, 2013/6/28
3. Kuge S, Teramoto T, Ishihara T. Ca²⁺ dynamics of a whole single neuron. 19th International C. elegans Meeting, University of California, Los Angeles, 2013/6/28
4. Sakai N, Tomioka M, Adachi T, Kunitomo H, Iino Y. Identification of molecules downstream of the insulin/PI3K pathway involved in the regulation of salt chemotaxis learning. 2014 C. elegans topic meeting: Neuronal Development, Synaptic Function and behavior, University of Wisconsin-Madison, 2014/7/8
5. Satoh Y, Sato H, Kunitomo H, Iino Y. Neural basis of plasticity and bidirectionality of klinotaxis. 2014 C. elegans topic meeting: Neuronal Development, Synaptic Function and behavior, Madison, Wisconsin, US, 2014/7/8
6. Kitazono T, Inoue A, Ishihara T. Downstream regulatory components of the TIR-1/JNK-1 pathway for forgetting in *C. elegans*. 2014 C. elegans topic meeting: Neuronal Development, Synaptic Function and behavior, University of Wisconsin-Madison, 2014/7/8
7. Iwasaki Y, Kuge S, Teramoto T, Ishihara T. Electrodifusion model for Ca²⁺ dynamics of a whole single neuron. 2014 C. elegans topic meeting: Neuronal Development, Synaptic Function and behavior, University of Wisconsin-Madison, 2014/7/8
8. Kuge S, Teramoto T, Ishihara T. Tracking of Ca²⁺ dynamics in a whole single neuron, 2014 C. elegans topic meeting: Neuronal Development, Synaptic Function and behavior, University of Wisconsin-Madison, 2014/7/9
9. Satoh Y, Sato H, Kunitomo H, Iino Y. Neural basis of plasticity and bidirectionality of klinotaxis. 2014 C. elegans Development, Cell Biology & Gene Expression Meeting in association with The 6th Asia-Pacific C. elegans Meeting, Nara, 2014/7/16
10. Onuma T, Sato H, Iino Y, Iwasaki Y. Numerical approach towards quantitative understanding of neural network of *C. elegans*. 2014 C.

- C. elegans* Development, Cell Biology & Gene Expression Meeting in association with The 6th Asia-Pacific *C. elegans* Meeting, Nara, 2014/7/16
11. Usuyama M, Iwasaki Y. A computational model of olfactory signaling in *C. elegans*. 2014 *C. elegans* Development, Cell Biology & Gene Expression Meeting in association with The 6th Asia-Pacific *C. elegans* Meeting, Nara, 2014/7/17
 12. Wang L, Tomioka M, Kunitomo H, Iino Y. Role of ASE Left Gustatory Sensory Neuron in worms' behavior of NaCl Chemotaxis. 2014 *C. elegans* Development, Cell Biology & Gene Expression Meeting in association with The 6th Asia-Pacific *C. elegans* Meeting, Nara, 2014/7/17
 13. Toriyabe H, Yamada K, Sawamura Y, Iino Y. Identification of genes involved in the pheromone signaling that regulates olfactory plasticity in *C. elegans*. 11th International Congress of Neuroethology and 36th Annual Meeting of The Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry, Sapporo, 2014/7/29
 14. Hino T, Fujiwara M, Ishihara T. Analyses of the developmental changes in the odor preference of *C. elegans*. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting Wiring the Brain, Cold Spring Harbor Laboratory, 2015/3/25
 15. Teramoto T, Tokunaga T, Hirose O, Toyoshima Y, Iino Y, Yoshida R, Ishihara T. Whole-brain imaging of *C. elegans* reveals multi-neuronal dynamics under non-stimulus condition, Cold Spring Harbor Laboratory Meeting Wiring the Brain, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, USA, 2015/3/26.
 16. Fujiwara M. The germline growth affects the neuronal circuits and the behavioral patterns of worms. *C. elegans* 2015 20th international meeting University of California, LA, U.S.A., 2015/6/25
 17. Kuge S "A quenching-type of fluorescent Ca²⁺ indicator for detecting neuronal inhibition" *C. elegans* 2015 20th International Meeting University of California, LA, U.S.A., 2015/6/26
 18. Teramoto T. Whole-brain Ca²⁺ imaging of *C. elegans* reveals the multi-neuronal dynamics that are coordinated by global synaptic connectivity. CREST-さがけ合同国際シンポジウム、東京大学、2015/11/4
 19. Kuge S. Quenching-type of fluorescent Ca²⁺ indicator for detecting neuronal inhibition. 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies HONOLULU, Hawaii, 2015/12/15
 20. Sato H. A gustatory neural circuit for experience-dependent salt chemotaxis in *C. elegans*. 20th International *C. elegans* Meeting, UCLA, Los Angeles, 2015/6/26
 21. Usuyama M. Ca²⁺ dependent negative feedback loop in AWC olfactory neurons: from mathematical viewpoint. *C. elegans* 2015 20th international meeting University of California, LA, U.S.A., 2015/6/26
 22. Sakuma H. Intrinsic graph structure estimation from whole-brain imaging data of *C. elegans*. 16th International Conference on System Biology, Biopolis, Singapore, 2015/11/23
 23. 王麗芳. A neural circuit for memory-dependent Na⁺ chemotaxis dissected in *Caenorhabditis elegans*. 17th International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT2016), パシフィコ横浜, 2016/6/8
 24. Toyoshima Y. Accurate automatic detection of densely distributed cell nuclei in 3D space. CeNeuro2016(*C. elegans* Topic Meeting: Neural Development, Synaptic Function and Behavior) 名古屋大学豊田講堂, 2016/7/28
 25. Sakuma H. Correlation clustering reveals intrinsic graph structure of

- whole-brain imaging data. CeNeuro2016(C. elegans Topic Meeting: Neural Development, Synaptic Function and Behavior)名古屋大学豊田講堂, 2016/7/29
26. Oe S. Analyses of the neuronal activities of the central nervous system by GCaMP6f in *C. elegans*. CeNeuro2016(C. elegans Topic Meeting: Neural Development, SYnaptic Function and Behavior)名古屋大学豊田講堂, 2016/7/29
 27. Iwasaki Y. Collective dynamics in whole-brain of *C. elegans*. 17th International Conference on Systems Biology, Barcelona Palau de Congressos, Spain, 2016/9/17
 28. Shuichi Yanagi, Mai Uemura, Yuichi Iino, Hirofumi Kunitomo. Long-lasting memory of salt chemotaxis learning in *C. elegans*. 37th Blankenese Conference, Blankenese, 2017/5/6.
 29. Keita Mori, Yu Toyoshima, Yuichi Iino. Labeling of active neural circuits by the calcium probe CaMPARI. The 21st International *C. elegans* Conference, UCLA (Los Angeles), 2017/6/22.
 30. Takashi NAGASHIMA, Masahiro TOMIOKA, Yuichi IINO. Multiple isoforms of the DAF-16/FOXO transcription factor regulate taste avoidance learning. 21st International *C. elegans* Meeting. UCLA (Los Angeles), 2017/6/22.
 31. Kuge S, Nishihara T, Matsuda T, Teramoto T, Nagai T and Ishihara T. An inverse-type of fluorescent Ca²⁺ indicator for detecting neuronal inhibition. 21st International *C.elegans* Conference, University of California, Los Angels.,2017/6/22
 32. Oe S, Murakami Y, Katsume T, Teramoto T, Tokunaga T (Kyutech), Toyoshima Y, Stephan W, Hirose O, Jang M.S, Sato H, Takizawa H, Kuge S, Iwasaki Y, Yoshida R, Iino Y, Ishihara T. Analyses of the mechanisms of information processing controlling behavior by whole-brain imaging in *C. elegans*. 21st International *C.elegans* Conference, University of California, Los Angels.,2017/6/23
 33. ChanHyun Park, Yuki Sakurai, Yuichi Iino, Hirofumi Kunitomo. Roles of the CLC chloride channel *clh-1* in food-associated salt chemotaxis learning of *Caenorhabditis elegans*. 21st International *C. elegans* conference, UCLA (Los Angeles), 2017/6/23.
 34. M.S. Jang, Y. Toyoshima, H. Kunitomo, Y. Iino. Identification of neurons and analysis of the neural circuit involved in the learned salt-avoidance behavior in *C. elegans*. 21st International *C. elegans* Meeting, UCLA (Los Angeles), 2017/6/23.
 35. Hirofumi Sato, Hirofumi Kunitomo, Xianfeng Fei, Koichi Hashimoto, Yuichi Iino. A gustatory neural circuit for experience-dependent behavioral plasticity. 21st International *C. elegans* Meeting. UCLA (Los Angeles), 2017/6/23.
 36. Rishun Chin, Yutaro Ueoka, Chihiro Uchiyama, Keita Katae, Masahiro Tomioka, Yuichi Iino. Neural mechanisms for sugar chemotaxis learning in *Caenorhabditis elegans*.. 21st International *C. elegans* Meeting. UCLA (Los Angeles), 2017/6/23.
 37. Iwasaki Y. Mathematical methods to analyze imaging data in the whole central nervous system: From noise reduction to causality detection. *C. elegans* 2017 21th international meeting, University of California, LA , U.S.A., 2017/6/24
 38. Masahiro Tomioka and Yuichi Iino. A versatile insulin-like signaling regulates taste avoidance learning. 21st International *C. elegans*

- Conference, UCLA (Los Angeles), 2017/6/24.
39. Hayao Ohno, Naoko Sakai, Takeshi Adachi, and Yuichi Iino. Diacylglycerol encodes differences between past and current stimulus intensity. 21st International C. elegans Meeting. UCLA (Los Angeles), 2017/6/24.
 40. N. Sakai, H. Ohno, M. Tomioka, Y. Iino. The Analysis of function of TORC2 Signaling Pathway in Associative Learning in *Caenorhabditis elegans*. 21st International C. elegans Meeting. UCLA (Los Angeles), 2017/6/24.

<国内>

1. 國友博文(東大)、岩田遼、佐藤博文、飯野雄一. 線虫の味覚神経においてホスホリパーゼ C-epsilon は経験に依存した塩走性を制御する. Neuro2013、国立京都国際会館、2013/6/21
2. 佐藤陽介(東大)、國友博文、飯野雄一. 線虫 *C. elegans* が背腹方向の濃度勾配を検出する機構の光遺伝学的解析. Neuro2013、国立京都国際会館、2013/6/22
3. 久下小百合(九大)、寺本孝行、石原健, “単一ニューロンにおける Ca^{2+} ダイナミクス”, 第 36 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2014/12/4
4. 岩崎唯史(茨城大)、久下 小百合、寺本 孝行、石原 健. Spatial-temporal Ca^{2+} dynamics in a whole single neuron of *C. elegans*: Mathematical modeling and analysis. 第 52 回日本生物物理学会年会、札幌コンベンションセンター、2014/9/27
5. 佐藤 博文(東大)、國友 博文、Xianfeng Fei、橋本 浩一、飯野 雄一. 線虫の経験塩濃度依存的な行動を制御する神経回路の解明. 第 37 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2014/11/25
6. 大野 速雄(東大)、飯野 雄一. 線虫 *C. elegans* の記憶学習に関わるジアシルグリセロールの in vivo イメージング. 第 37 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2014/11/25
7. 片江 圭太(東大)、富岡 征大、上岡 雄太郎、飯野 雄一. 線虫 *C. elegans* の糖濃度走性に潜む行動戦略の解析. 第 37 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2014/11/25
8. 豊島有(東大)、徳永旭将、広瀬修、寺本孝行、張文瑄、久下小百合、石原健、吉田亮、飯野雄一. 密集した細胞核の高精度な自動認識手法. 第 37 回日本分子生物学会年会、横浜 パシフィコ横浜、2014 年 11 月 26 日
9. 寺本孝行(九大)、徳永旭将、広瀬修、豊島有、飯野雄一、吉田亮、石原健. 線虫 *C. elegans* の全中枢神経の Ca^{2+} イメージングによる刺激に対する応答と無刺激時における神経活動の計測. 第 37 回日本分子生物学会年会、横浜 パシフィコ横浜、2014 年 11 月 26 日
10. 藤原 学(九大)、佐藤則子、丸山新一、石原 健. 線虫の感覚行動のライフサイクルにおける変化とその制御機構. 第 37 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2014/11/26
11. 日野喬央(九大)、藤原 学、石原 健. 線虫 *C. elegans* を用いた成長にともなう行動パターン変化の制御機構の解析. 第 37 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2014/11/26
12. 青山 到(九大)、藤原 学、石原 健. 線虫 *C. elegans* の成長に伴う神経活動変化のイメージング解析. 第 37 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2014/11/26
13. 久下(原)小百合(九大)、寺本孝行、石原 健. 線虫、*C. elegans* の単一神経細胞におけるカルシウムダイナミクス. 第 37 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、

- 2014/11/27.
14. 宇壽山 衛(茨城大)、岩崎唯史. 線虫 *C. elegans* の嗅覚信号経路に関する数理モデル. 第 37 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2014/11/27
 15. 小沼卓也. 線虫の神経回路におけるシナプス極性の推定. 定量生物の会・第 7 回年会、九州大学筑紫キャンパス、2015/1/11.
 16. 宇壽山 衛(茨城大). *C. elegans* の単一神経細胞を対象とした匂い刺激応答のコンピュータシミュレーション. 定量生物の会・第 7 回年会、九州大学筑紫キャンパス、2015/1/11.
 17. 久下小百合(九大). 抑制性神経活動を検出する消光型蛍光カルシウムプローブタンパク質. 日本分子生物学会、神戸国際展示場、2015/12/3
 18. 大江 紗(九大). 線虫 *C. elegans* の頭部神経系全体の GCaMP6f を用いた解析. 日本分子生物学会、神戸国際展示場、2015/12/3.
 19. 豊島 有(東大). 3 次元的に密集した細胞核の高精度な自動認識手法. バイオイメージングフォーamatixワークショップ 2015、福岡県博多市、2015/6/18.
 20. 豊島 有(東大). 3 次元的に密集した細胞核の高精度な自動認識手法. 定量生物の会第 7 回年会、九州大学筑紫キャンパス C-Cube(福岡県春日市)、2015/1/11.
 21. 豊島 有(東大). 全脳イメージングの自動解析に向けた要素技術について”バイオイメージングフォーamatixワークショップ 2016、大阪大学吹田キャンパス(吹田市)、2016/6/22.
 22. 岩崎唯史(茨城大). Phase synchronization analysis of whole-brain imaging data of *C. elegans* . 第 54 回日本生物物理学会、つくば国際会議場、2016/11/27.
 23. 久下小百合(九大). 神経活動の興奮と抑制を同時に測定するためのインバースタイプのカルシウムプローブの開発. 第 39 回日本分子生物学会、パシフィコ横浜、2016/11/30.
 24. 大江 紗(九大). 線虫 *C. elegans* の頭部神経系全体の GCaMP6f を用いた活動解析. 第 39 回日本分子生物学会、パシフィコ横浜、2016/12/2.
 25. ChanHyun Park(東大), Yuki Sakurai, Yuichi Iino, Hirofumi Kunitomo. Roles of the ClC chloride channel clh-1 in salt chemotaxis learning of *Caenorhabditis elegans*. 第 17 回東京大学生命科学シンポジウム、東京大学、2017/4/15.
 26. Takashi NAGASHIMA (東大), Masahiro TOMIOKA, Yuichi IINO. Multiple isoforms of a DAF-16/FOXO transcription factor are involved in learning and memory in *C. elegans*. 第 40 回 日本神経科学大会、幕張、2017/7/20.
 27. 森 啓太(東大)、古戎道典、大野速雄、小林静香、真鍋俊也、饗場 篤、飯野雄二. Generation and characterization of calyntenin triple knockout mice. 第 40 回 日本神経科学大会、幕張、2017/7/22.
 28. Hirofumi Kunitomo (東大), Hirofumi Sato and Yuichi Iino. Roles of primary interneurons that regulate memory-dependent salt concentration chemotaxis in *C. elegans*. 第 40 回 日本神経科学大会、幕張、2017/7/22.
 29. Jang Moon-Sun(東大), Yu Toyoshima, Hirofumi Kunitomo, Yuichi Iino. Identification of neurons and analysis of the neural circuit involved in the learned salt-avoidance behavior in *C. elegans*. 第 40 回 日本神経科学大会、幕張、2017/7/22.
 30. 岩崎唯史(茨城大). Causality analysis on whole-brain imaging data of *C. elegans*. 第 55 回日本生物物理学会年会、熊本大学(熊本市)、2017/9/19.
 31. 久下小百合(九大) 単一ニューロンにおける Ca^{2+} ダイナミクス, 2017 年度生命科学系学会合同年次大会(ConBio2017)神戸 2017/12/6

32. Park ChanHyun(東大)、櫻井裕樹、飯野雄一、國友博文. Roles of the CLC chloride channel CLH-1 in salt chemotaxis learning of *Caenorhabditis elegans*. ConBio2017, 神戸ポートアイランド, 2017/12/7.
33. 池 泰明(東大)、姜 涛、富岡征大、飯野雄一. 線虫 *C. elegans* の連合学習における E3 ユビキチンリガーゼの制御機構の解析. ConBio2017, 神戸ポートアイランド, 2017/12/7.
34. 陳 立峻(東大)、上岡雄太郎、内山千紘、片江圭太、富岡征大、飯野雄一. 線虫 *Caenorhabditis elegans* の糖走性学習を生み出す神経機構. ConBio2017, 神戸ポートアイランド, 2017/12/7.
35. 森 啓太(東大)、古戎道典、小林静香、城山優治、真鍋俊也、饗場 篤、飯野雄一. 哺乳類におけるカルシンテニンの機能:トリプルノックアウト マウスを用いた解析. ConBio2017, 神戸ポートアイランド, 2017/12/7.
36. 廣木進吾(東大)、田村成宏、富岡征大、國友博文、飯野雄一. 線虫 *C. elegans* の DAG/PKC 経路による学習制御機構の解析. ConBio2017, 神戸ポートアイランド, 2017/12/7.

(4)知財出願

- ①国内出願 (0 件)
- ②海外出願 (0 件)
- ③その他の知的財産権

(5)受賞・報道等

①受賞

2013 年度統計関連学会連合大会 最優秀報告賞、徳永旭将、2013/9/8 日-11 日
 2014 *C. elegans* topic meeting: Neuronal Development, Synaptic Function and behavior, First Prize、Naoko Sakai、2014/7/10 日
 2014 *C. elegans* Development, Cell Biology & Gene Expression Meeting in association with The 6th Asia-Pacific *C. elegans* Meeting, Poster Award、Yohsuke Satoh、2014/7/16 日
 生命医薬情報学連合大会 2014 年大会 JSBi 研究奨励賞、池端久貴、2014/10
 生命医薬情報学連合大会 2014 年大会 JSBi 最優秀口頭発表賞、池端久貴、2014/10
 井上科学振興財団井上研究奨励賞、大野速雄、2016/2/4 日
 第 5 回 生命医薬情報学連合大会(IIBMP2016) 研究奨励賞、Stephen Wu、2017/9/30 日
 第 5 回 生命医薬情報学連合大会(IIBMP2016) 研究奨励賞、池端 久貴、2017/9/30 日

②マスコミ(新聞・TV等)報道

日経産業新聞、「線虫、味覚を記憶」、2013/8/7
 マイナビニュース、「線虫は塩の濃度を記憶してそれと同じ環境を求めて移動するー東大」、2013/7/29

(プレス発表概要:

- ・過去の記憶をたよりに、動物が生存に有利な環境を探す仕組みが明らかに。
- ・線虫が味覚を記憶することが明らかになったのは、40 年ほどの研究の歴史で初めて。
- ・記憶と学習の仕組みを高等生物で理解するためにも役立つと期待される。)

New York Times、「The Gene That Turns Worms Into Pavlov's Dogs」、2014/7/21
 日本経済新聞、「インスリン、記憶に作用ー東大が解明」、2014/7/18 日夕刊および電子版

(プレス発表概要:

- ・インスリンを受け取るタンパク質(インスリン受容体)は、異なる機能を持った2種類のタイプ(大きいタイプと小さいタイプ)が合成される
- ・認知症関連遺伝子の一つであるカルシンテニンは、大きいタイプのインスリン受容体をシナプスへと輸送することで学習を成立させる
- ・今回の研究成果が記憶・学習の仕組みの解明や認知症の治療に役立つことが期待される)

神奈川新聞、「データ科学の新時代」、2016/10/28

③その他

(6)成果展開事例

①実用化に向けての展開

- ・ 特になし。

②社会還元的な展開活動

- ・ 開発したプログラムは以下で公開されている。
SPF-CellTracker: <http://github.com/ohirose/spf>
RoiEdit3D: <https://dx.doi.org/10.6084/m9.figshare.3184546>

§5 研究期間中の活動

5. 1 主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2012/12/7	「バイオモデリングと統計科学」研究会 特別セミナー	統計数理研究所	5 人	当該チーム岩崎唯史氏による神経系数理モデリングに関する特別講義
2014/12/9-10	統計数理研究所公開講座 「バイオイメーজデータ解析」	情報・システム研究機構 統計数理研究所	50 人	一般向けにバイオイメーজデータ解析の集中講義を実施
2017/7/23	第 40 回日本神経科学大会 シンポジウム "Frontiers in neuroimaging - what we learn from the comprehensive imaging data" (CREST 後援)	幕張メッセ	約 150 人	学会の公募シンポジウム
2017/7/24	CREST 国際シンポジウム "Computational principles of the nervous system - elucidated from the observations of neural population activity"	東京大学鉄門記念講堂	約 100 人	本研究課題主催成果発表シンポジウム(日本神経科学大会サテライトシンポジウム)

§6 最後に

当初からの課題としていた生物学的問題についての解答が多く得られ、いくつかの主要な論文が発表できました。一方、全神経のイメージングは当初想定していたより課題として難しく、細胞認識、トラッキング、細胞名のアノテーションのいずれのステップでも既存のツールが使えませんでしたので、基盤的な技術開発から行う必要がありました。逆にそのために、新規解析技術の開発の成果が多く得られる結果となりました。チームのメンバー構成は非常によく、密なインタラクションのもとに全員一体となって課題に取り組むことができました。その結果、神経回路の動的・確率的なつながり替えという先行研究がアドレスできなかった特性が明らかになり、今後の発展につながる成果となりました。

