

戦略的創造研究推進事業 CREST  
研究領域「生命システムの動作原理と基盤技術」  
研究課題「行動を規定する神経回路システム動態  
の研究」

## 研究終了報告書

研究期間 平成18年10月～平成24年3月

研究代表者: 森 郁恵  
(名古屋大学大学院理学研究科 教授)

## § 1 研究実施の概要

### (1) 実施概要

本研究は、システムのアプローチによって、刺激入力から筋肉運動としての出力にとって必須である神経回路の動作原理を明らかにすることを目的として、研究代表者(森)と研究参加者から構成される森チームによって実施され、概ね研究構想に沿って研究を遂行した結果、画期的成果を得ることに成功した。H18 年度に本研究を開始した当初は、カルシウムイメージング法による神経活動の測定手法、多点同時イメージング法、線虫行動の自動追尾システム、光遺伝学(オプトジェネティクス)の技術などの開発を行った。H20 年度に入り、それらの開発機器やシステムを活用して研究成果が得られるようになり、論文化して発表することができた。H21 年度は多点同時イメージングシステムを用いて、温度走性神経回路における複数のニューロンの活動を同時に測定することにより、神経回路の動態をとらえることに成功した(Kuhara, Okumura et al., *Science*, 2008)。H21 年度は、温度情報伝達や温度学習に関わる様々な分子の変異体に関してカルシウムイメージングによるニューロンの活動を計測し、温度走性回路の動態がどのように変化しているかをとらえることに成功し、神経回路動態に関する画期的概念を提示することができた(Ohnishi et al, *EMBO J.*,2011; Kuhara et al.,*Nat. Commu.*, 2011)。

また、H20 年度は、温度記憶の形成過程におけるマイクロアレイ解析から、ヒートショックファクター-1(HSF-1)が、温度走性に関わることを見出した。さらに、H21 年度には、分子遺伝学とカルシウムイメージングによる解析によって、HSF-1 が個体全体の体細胞において生存可能な飼育温度を感知することによって、多くの下流遺伝子が転写され、温度走性行動を生み出す神経回路における温度受容ニューロン AFD を細胞非自律的に制御することを明らかにした。22年度は、HSF-1による全身性温度受容メカニズムの下流で、エストロゲンシグナルが、AFD の記憶を制御することを見出した(Sugi et al., *Nat. Neurosci.*, 2011)。

H22年度までに、AFD および AWC 温度受容ニューロン特異的に発現する *srtx-1* 遺伝子がコードする SRTX-1/GPCR が AFD で機能し、幅広い温度域の受容に必須であることが示唆された(Sasakura et al.,未発表)。また、AFD 温度受容ニューロンにおける温度受容機構の解析を進めていたところ、飼育温度の記憶には、CREB、CMK(カルシウムカルモジュリン依存性リン酸化酵素)、ERK リン酸化経路が関与することを示唆する結果が得られた(Kobayashi, Sasakura et al., 未発表)。

H22 年度までに、温度勾配上での多数の *C. elegans* 個体の行動をコンピューター内に取り込む装置を作製し、多数個体の行動の軌跡をコンピューター内で解析し再現するプログラムを望月敦史研究グループと共同で開発し、開発した機器とプログラムをもちいて、コンピューターでの温度走性行動のパラメーターの抽出を行った。また、H22 年度までに、温度走性時の線虫を自動追尾し、行動中の線虫の拡大画像を記録するシステムを構築し、さらに、動画データを解析することにより個体の行動系列を数値化し、行動パターンを抽出するプログラムを作成した。さらに、温度受容ニューロン AFD の温度走性中の活動を、カルシウムイメージング法により測定し、行動系列と神経活動を同時に定量的に評価する手法を確立した(Tsukada et. al, 未発表)。

## (2) 顕著な成果

### 1. 温度を感じる嗅覚ニューロンを発見

概要: 線虫において、匂いを感じると考えられていたニューロンが温度も感知できることを発見し、ヒトの匂い、光、味の感知に重要な三量体Gタンパク質が、温度感知機構に関与していることを明らかにした(Kuhara, Okumura et. al., *Science*, 2008)。

### 2. 神経回路における情報のせめぎあいや相反する情報伝達を発見

概要: 2種類のニューロンは、シナプス結合する1種類のニューロンに対し、同じ神経伝達物質を介して、それぞれ抑制性と興奮性の情報を伝えることや、1種類のニューロンが、シナプス結合する1種類のニューロンに対し、興奮性と抑制性の情報を伝えていることを見出した(Ohnishi et al., *The EMBO Journal*, 2011; Kuhara et. al., *Nature Communications*, 2011)。

### 3. 内在性エストロゲンを通じて温度記憶を制御する全身性温度受容システムの発見

概要: HSF が全身で温度を感知すると、エストロゲン合成が促され、神経回路における情報の流れの変化を起こすことによって、記憶が変化することを見出した(Sugi et al., *Nature Neuroscience*, 2011)。

## § 2. 研究構想

### (1) 当初の研究構想

認識、記憶、学習、情動や行動を規定する脳内情報処理による判断メカニズムを包括的に理解することは、現在の神経科学において、最重要課題の一つである。しかし、その研究手段は多岐に渡り、研究の階層も多様であり、それぞれの研究が、どのように関連しているのかを把握することは非常に困難である。本研究では、線虫 *C. elegans* の温度記憶学習行動を規定する神経回路を1つのシステムとして、総合的な解析を進めることを目的とした。神経回路動態の仕組みを探るために、新しい観点に基づいた神経細胞の活動や、行動の鍵となる遺伝子発現などのイメージング技術を開発し、必要に応じてコンピュータシミュレーションを導入し、新概念の提言を目指した。

研究構想は、線虫 *C. elegans* をモデル動物とし、温度記憶学習行動である温度走性のコアとなる単純な神経回路がわかっていたことに基づいている。線虫 *C. elegans* は、「究極のモデル実験動物(Ultimate model)」と称されるとおり、常に他の生物種に先駆けた先駆的・網羅的な解析の対象となる実験動物である。1980年代初頭には、受精卵から成虫に至るまでの全細胞系譜が既に明らかにされた。また、ゲノムプロジェクトにおいても、まず、線虫が先頭を走り、線虫ゲノムの全塩基配列は1998年に決定された。線虫のゲノム解析において、多くの新しい手法や実験技術が開発され、それらは、ヒトゲノム解読に応用されることによって、非常に迅速にヒトゲノムプロジェクトが遂行した。

本研究のねらいは、線虫が全生物を通じて、唯一、神経回路の配線図の全貌が解明されているモデル動物であることを土台とし、線虫の神経回路の中でも、温度に対する応答行動であり、記憶や学習に起因する行動である温度走性の神経回路をシステムとしてとらえ、そのシステム全体の作動原理を総合的に理解することである。温度走性神経回路を構成するニューロンの中では、さまざまな遺伝子が機能している。そして、シナプス結合で連絡するニューロンとニューロンの間では、別の次元の遺伝子の働きがある。さらに、神経回路を構成するネットワークとして、遺伝子やニューロンは、適切に行動するために、適切に機能しているはずである。このように、異なる次元の階層すべてを網羅した解析が必要であると考えられていたが、異なる階層レベルでの網羅的解析が可能な神経系システムは、線虫以外では、存在しなかった。従って、本研究を遂行することで、脳・神経系機能の根幹をなす神経回路システムの作動原理の本質を提示できると期待された。

5年間の研究計画・進め方としては、本研究者らが既に、感覚応答行動を「感覚情報→感覚ニューロン→情報処理介在ニューロン→コマンド介在ニューロン→運動ニューロン→筋肉活動」という1つの神経回路システムを、神経回路レベルでとらえる事に成功していることを生かし、この神経回路システムを包括して分子生理学的に解析し、人工的にコンピューター内で再構築することを目指した。具体的には、以下の研究を5年間に渡って同時に進めることとした。

#### 1. 線虫行動を支配する神経回路のイメージング

感覚入力から行動としての出力にいたる生体システムに関わるすべての細胞活動を、イメージング技術をもちいて網羅的に測定する。実際には、特定の細胞でのみカレオンなどのカルシウムインディケーター遺伝子を発現させ、温度刺激時における神経細胞の活動変化を包括的に測定する。また、新しい神経活動のイメージング技術を創出し、また、多点イメージングを行い、神経回路全体のダイナミックな動態を明らかにする。この研究は、本研究全体の骨子の1つである。

#### 2. 感覚入力から行動出力に至る神経回路制御機構の *in silico* 再構築

神経活動のイメージングによって得られた分子生理学的データから、各神経細胞ごとに活性化メカニズムを関数化する。次に、各細胞ごとに作製した関数を神経回路内に当てはめ、神経ネットワークの関数として処理する。組み上げられた関数に感覚入力を加えることで得られたアウトプットが、*in vivo* での行動と一致することを確認したのちに、計算で得られた予測値をもとに、*in vivo* での細胞レベルと行動レベルでの解析の新たな視点を探る。これらの研究から、*in silico* における「行動の予測」が可能になることを期待する。この研究は、本研究全体において、最もチャレンジングであり、実験科学と理論科学の融合という点において、線虫の神経回路において、まず、この研究を成功させることは、画期的な意義がある。

### 3. 温度受容機構の分子遺伝学的解析

線虫を用いた神経科学研究の最大の利点は、順遺伝学、逆遺伝学を駆使した分子遺伝学である。本研究において、温度走性行動の中でも、特に温度受容機能に焦点を当て、温度受容体などを発見するため、順遺伝学的方法により、突然変異体の単離や原因遺伝子の同定を行う。しかし過去に、順遺伝学手法を数回行ったところ、何度も、同じ遺伝子に変異が起きた変異体が単離され、新規変異体がなかなか単離されてこないことを経験している。したがって、順遺伝学的手法から遺伝子を同定するには限界があると思われた。そこで本研究では、温度走性行動異常を抑圧する変異体の単離を行い、既知の遺伝子の機能と関連する遺伝子群を見いだす努力をする。また、行動異常を直接観察することに依存しない方法、具体的には、GFP の発現などで神経活動をモニターしながら、温度受容神経細胞の機能に関わる変異体を探索し、その解析を行う。

#### (2) 新たに追加・修正など変更した研究構想

本研究構想の一貫として、温度走性の本質の1つである「温度受容から温度記憶へ、どのような過程を経て移行するのか」という課題を明らかにするために、H20 年度から、「HSF-1 による温度受容が与える温度走性神経回路制御の分子レベル解析」という項目を追加した。研究手法としては、マイクロアレイを利用した記憶過程に関与する遺伝子の網羅的解析を行い、どのような遺伝子が温度記憶過程において発現変動を起こすか調べることにした。

同様に、温度走性における温度記憶機構を明らかにするために、多くのモデル動物において記憶に関与することが知られている CREB (cAMP responsible element binding protein) の線虫オルソログ CRH-1 の変異体 *crh-1* の温度走性を調べたところ、異常が見られた。一方で、当研究室の過去の研究から、温度受容ニューロン AFD は、自身の中で記憶を成立させていることが示唆されていた (Kimura, et al., 2004)。そこで、AFD における記憶の成立に CREB が関与しているかどうかを検証する研究を、H22 年度から追加した。

AFD 温度受容ニューロンにおける温度受容機構の解析を進めていたところ、飼育温度の記憶には、CREB、CMK(カルシウムカルモジュリン依存性リン酸化酵素)、ERK リン酸化経路が関与することを示唆する結果が得られてきた。そのため、「温度記憶機構の解析」という項目を H22 年度から追加した。

### §3 研究実施体制

#### (1)「森」グループ

##### ①研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
森 郁恵	名古屋大学大学院理学 研究科	教授	H18.10～
久原 篤	同上	助教～講師 (H21.10より)	H18.10～H23.3
笹倉 寛之	同上	CREST研究員	H18.10～
村上 由美	同上	技術補佐員	H18.10～
榊 貴子	同上	技術補佐員	H19.4～
児玉 英志	同上	CREST研究員	H19.4～H19.8
杉 拓磨	同上	技術補佐員～CR EST研究員 (H19.6より)	H19.4～H23.3
木全 翼	同上	M2 D3	H19.4～H20.3 H23.4～H24.3
宮良 晶子	同上	D3	H20.4～H21.3
西尾 奈々	同上	D3	H20.4～H23.3
下和田 智康	同上	M1～2	H20.4～H22.3
塚田 祐基	同上	CREST研究員 ～助教 (H21.9より)	H21.2～
大西 憲幸	同上	D3～CREST研 究員(H23.4より)	H21.4～H23.7
Paula JURADO	同上	CREST 研究員	H21.10～H23.4 H23.7～23.7
小林 暁吾	同上	M2	H22.4～H23.3
古田 智敬	同上	M2	H22.4～H23.3
中村 文哉	同上	M1～2	H22.4～H24.3
池田 真悟	同上	M1～2	H22.4～H24.3
平松 尚也	同上	M1～2	H22.4～H24.3
日沖 裕貴	同上	M1	H23.4～H24.3
落合 悠太	同上	M1	H23.4～H24.3
塚本 聡美	同上	M1	H23.4～H24.3
太田 智美	同上	M1	H23.4～H24.3

##### ②研究項目

行動を規定する神経回路システム動態の研究

- ・イメージングによるニューロンの活動測定
- ・イメージング技術の創出と多点同時イメージングの具体化
- ・コンピューターシミュレーション
- ・数理モデルの作成
- ・温度受容機構の分子遺伝学的解析
- ・HSF-1による温度受容が与える温度走性神経回路制御の分子レベル解析
- ・温度記憶におけるCREBの役割
- ・温度記憶機構の解析

## § 4 研究実施内容及び成果

### 4. 1 行動を規定する神経回路システム動態の研究(名古屋大学 森グループ)

#### (1)研究実施内容及び成果

##### (1)「実験科学」と「理論科学」の相互フィードバックによる温度走性行動と神経回路システムの統合的理解

温度走性神経回路の活動を個々のニューロンの活動として測定するだけでなく、複数のニューロンの活動を同時に測定し、神経回路全体の動態としてとらえることを目標として実験を行い、多くの画期的結果を得た。21 年度から 23 年度にかけては自由行動下での線虫の行動と神経活動の同時計測を行い、行動と神経活動の関係を定量的に示す実験結果を得た。

##### イメージングによるニューロンの活動測定

温度走性神経回路の活動のコンピューターシミュレーションを行う上で、回路を構成する個々のニューロンの活動状態の計測は極めて重要である。*C. elegans* の温度走性研究の最大の利点は、温度刺激の入力場所である感覚ニューロンから、その情報の処理や統合を行い、走性行動に反映させる介在ニューロンに至るまで、1つの行動を支配する神経回路が明らかにされている点にある。本プロジェクトでは、温度走性行動を司るニューロンの活動状態を計測し、どのような動作原理によって神経回路が働くかを明らかにすることを目的とした。当研究室では、すでに、カルシウムイメージング法を用いて、*C. elegans* の主要な温度受容ニューロンである AFD の活動状態の測定に成功していた(Kimura et al. 2004)。その後の分子遺伝学的解析により、従来、嗅覚ニューロンとして知られていた AWC 感覚ニューロンが、未知であったもう一つの温度受容ニューロン X であることが明らかになり、平成 18 年度において、AWC 嗅覚/温度受容ニューロンの温度に対する応答性のカルシウムイメージングに成功し、AFD と AWC 温度受容ニューロンの温度に対する応答性の違いが明らかになった(Kuhara, Okumura et al., 2008)。これまでの研究から、温度の入力場所である感覚ニューロン AFD と AWC の活動状態が明らかになってきたため、次の課題として、温度受容ニューロンの下流の介在ニューロン AIY と AIZ、さらにそれらの情報の統合処理に重要な介在ニューロン RIA の活動状態を明らかにすることが重要であった。そこで、温度走性神経回路中の介在ニューロン AIZ と RIA の活動測定を行ない、応答性も明らかにした(Kuhara & Mori, 2006; Kodama et al., 2006)。

##### 多点同時イメージング

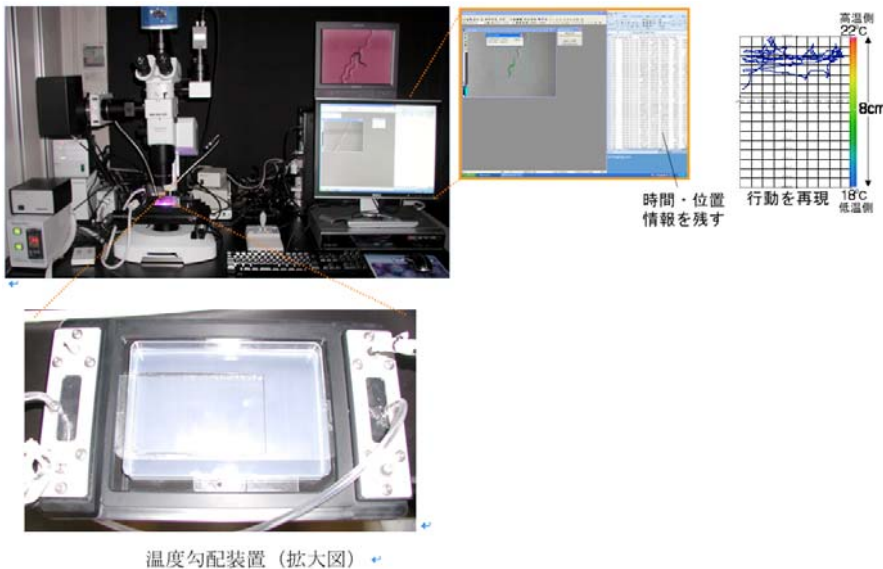
複数のニューロンの活動を同時に計測する多点イメージングシステム(顕微鏡システム)の開発にあたり、まず、顕微鏡像において複数ニューロンを同時に同一焦点面上にとらえる手法として、前後左右方向に 3D 回転を可能にした顕微鏡ステージをオリンパス社と共同開発した。また、*C. elegans* に温度刺激を与えた際に、温度変化によるスライドガラスやサンプルの熱膨張や収縮による焦点面の「ずれ」を 3D 回転ステージ上で、補正するための補正システムもオリンパス社と共同で開発した。開発した機器により温度走性神経回路における重要なニューロンの活動の同時測定を行い、特に AFD 感覚神経細胞と AIY 介在神経細胞の活動が連動していることを示した。3D ステージは落射照明の顕微鏡で複数ニューロンの活動を観測するために必須の機器であり、この開発により他の神経細胞での複数同時観察も可能となるため、広い発展性が見込める成果である。またこの機器により実際に複数ニューロンの活動を得たことで、実用性を示した。3D ステージの利用は世界的に例がなく、今後の神経回路研究分野で特筆する成果と言える。

### 膜電位インディケーターによる多面的な測定

神経活動を測定するイメージング技術については、従来の  $\text{Ca}^{2+}$ インディケーターに加え、膜電位インディケーターも利用することで、AFDの活動変化にともなった、興奮性と抑制性の神経伝達パターンの暗号を明らかにした(Kuhara et al., 2011)。 $\text{Ca}^{2+}$ インディケーターで得られた結果を膜電位インディケーターで検証することで、 $\text{Ca}^{2+}$ だけに依存した現象ではなく、確かに神経が活動していることを示すことができた。膜電位インディケーターは培養細胞ではなく個体で使われた例は少なく、個体でこれらの光測定技術が使えることを示した数少ない結果である。

### 線虫のトラッキングシステム構築

温度走性行動中の線虫の運動を数値化するためには、温度勾配上で自由に行動している線虫の移動を追尾し、顕微鏡視野に個体を捉え続け画像として記録するための顕微鏡/コンピューターシステムが必要である。オリンパス社と日本モレキュラーデバイス社との共同開発により、線虫の移動を追尾するシステムを構築し、東海ヒット社との共同開発により、追尾システムの標本ステージに温度変化機能や温度勾配機能を取付けることに成功した。さらに、温度刺激による線虫の首振り頻度と角度の変化をコンピューター処理により数値化するためのソフトウェアの開発にも成功した。これらの機器は本プロジェクトを進める上で基盤となる解析方法となり、他の成果に繋がる土台となる技術となった。

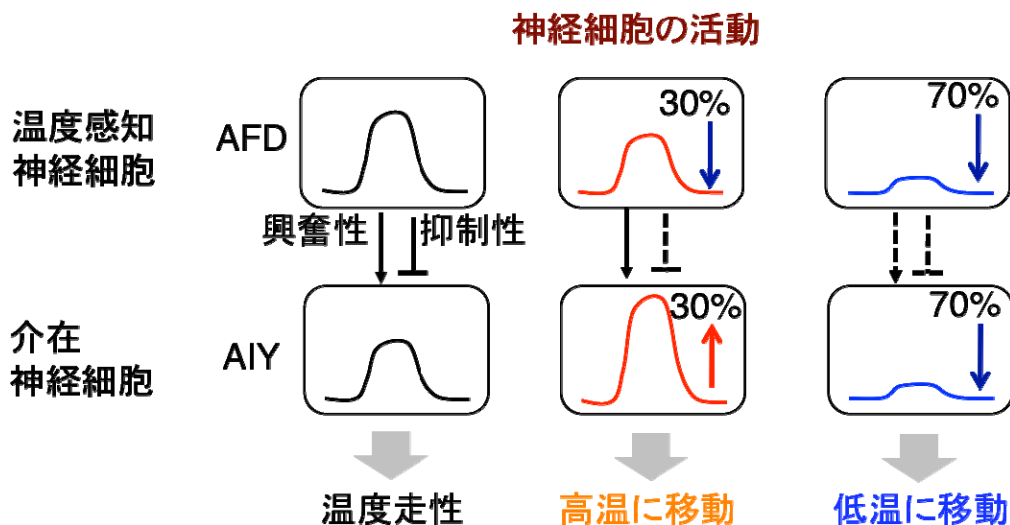


### 神経回路の人工操作による神経機能の新概念の創出

遺伝的にコードされたカルシウムインディケーターを利用した、イメージングによる神経活動の測定に留まらず、光により非侵襲に神経活動の操作するシステムの研究を進めた。これに伴い、ハロドロプシン (HR) とチャネルドロプシン (ChR) の励起光を温度走性中の線虫に照射する装置を開発した。オリンパス社と共同開発したランプハウス、ガルバノシャッター、パルスジェネレーター、光ファイバーなどを組み合わせたシステムにより、任意の強さで、パルスとして光刺激を行うことを可能にした。開発した機器を使い、HR と ChR をそれぞれ AFD 神経細胞に発現させた個体が温度走性行動をしている状態で、光により神経回路活動の操作を行うことに成功した。温度受容ニューロン AFD に HR を発現させ、HR の励起光(20Hz, 5ms, 20mW/mm<sup>2</sup>)を照射したところ、飼育温度より「高温」に移動する好熱性異常が観察された。同様の異常が、AFD のグルタミン酸シナプス伝達の変異体においても観察された。これらの好熱性異常は、予想外にも、AFD の膜電位変化が欠損した変異体



が示す「好冷性」や「温度無走性」の異常とは相反するものであった。つまり、AFDのCa<sup>2+</sup>濃度の変化率に応じて、下流の介在神経の活動を逆転させている可能性が示唆された。そこで、開発した最新光技術装置を従来の分子遺伝学と組み合わせて詳細な解析を行なったところ、AFD温度受容ニューロンがAIY介在ニューロンに対して、興奮性と抑制性の神経伝達を行なっていることが明らかとなった。この結果は、単一の感覚ニューロンが、単一の介在ニューロンに対して、興奮性と抑制性の制御を行なう例を提示した新概念の創出となった (Kuhara et al.,2011)。光により神経活動を操作するアイデアの実現は、現在世界的に競争が激しい分野であり、ショウジョウバエやマウスなど、生物種を問わず挑戦されている問題である。他の研究に先駆けて、光操作により個体の行動を制御する神経回路を操作することで、これまで想像できなかった神経回路機構の一端を示したことは本プロジェクトの中でも特筆する成果である。



上記のように HR、ChR を使った神経細胞の光操作を、温度走性行動中に行うことが可能になったが、この原理を使ってさらに学習中の神経回路動態について研究を進めるため、温度条件を記憶させている飼育期間に光操作する装置を開発した。広い範囲に高出力の光をあてるために、5台の水銀ランプから大口径光ファイバーによりインキュベーター内に光を導入し、HR や ChR を発現した線虫に光が届くようにした。現在、えさと温度との連合記憶を形成している期間で温度受容神経細胞 AFD の活動を阻害することで、線虫の記憶を操作する実験の条件検討を行っている。

#### 温度走性行動と神経活動の同時定量解析

本プロジェクトで開発した個体追尾顕微鏡システムを利用することにより、温度走性中の *C. elegans* の行動を動画として長時間記録し、画像処理を利用してこれを定量化することで、行動の動態を解析することが可能となった(下図左:野生型 N2 の行動に対する解析結果、下図右: *ttx-8* 変異体の行動に対する解析結果)。この解析により言葉で記述しにくい行動の変化を明確にすることができ、大量のデータから実験者の目でみつけにくい現象を認識することを可能とした。この解析方法を行動に異常の現れる変異体に対して適用することで、定量的にその異常行動を評価することができ、新規遺伝子の解析に有効であることを示した(Miyara et al. 2011)。

## ①時系列画像の認識

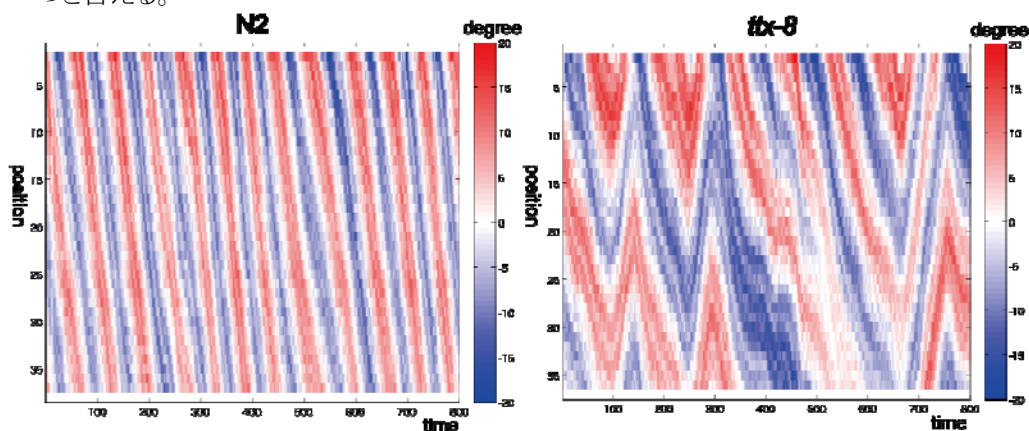


## ②行動出力の定量化

- ・隣合う解析点間の角度計算
- ・各解析点での傾度値の測定



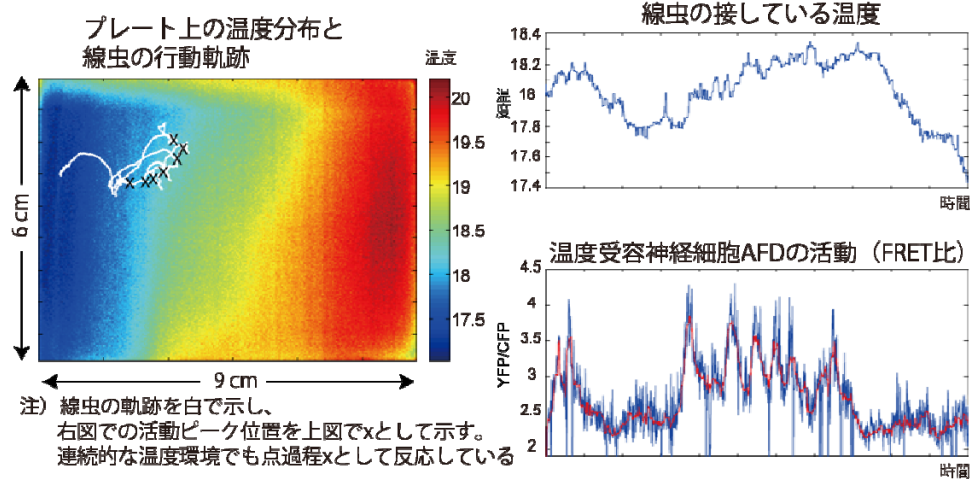
このような行動解析は徐々に様々な解析へ取り入れられているが、効果的に遺伝学的な解析へ取り入れられている例は少ない。そのため、画像解析の有用性を示す先駆的な例の一つと言える。



### 自由行動する線虫に対するカルシウムイメージング

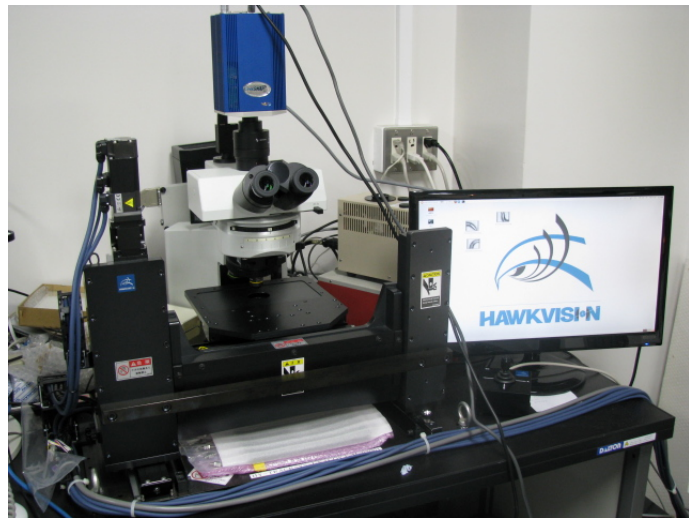
本プロジェクトで開発したトラッキングシステムと、カルシウムイメージングによる神経活動を観測するシステムを組み合わせることで、行動の時系列解析と合わせて温度受容ニューロン AFD の神経活動を記録することが可能となった。動く生物個体を標的にしたカルシウムイメージングは非常に難しく、特に長時間の計測は世界的にも例を見ない。これについては、励起光の顕微鏡視野内のムラを測定する専用の解析手法や解析プログラムを開発することにより実現した。トラッキングシステムから得られた線虫の行動軌跡と、サーモグラフィで取得した温度の空間情報から、線虫が接している温度の時系列情報を推定し、定量化した行動データと AFD の神経活動データを総合的に解析することで、温度入力、神経活動、行動出力の3つの動的な関係の解析を行った。興味深いことに、空間的に連続して変化する温度環境でも、温度受容ニューロン AFD は断続的に反応しており、温度を「点」として感知していると考えられる結果が得られた。また、餌と温度を条件付けた状況下で、AFD の活動と近いタイミングで方向転換行動が見られ、AFD の活動と方向転換行動が1対複数の関係で対応することが示唆された。さらに、えさ条件を変えたときに起こる温度走性行動の変化は、この AFD 活動依存的な方向転換と対応することを発見した。これは、AFD 神経細胞での活動が温度依存的に起こる一方で、方向転換行動についてはえさシグナルと情報が統合されることで初めて出力されることを示す結果であり、神経回路における感覚入力、情報処理、そして行動出力の関係を明確に示すものである。これらの結果から、バイアスドランダムウォークに基づいた数理モデルを構築し、温度走性行動の動的な理解を進めている。入力と出力が一对一で対応する情報処理や、入力のみに関する神経回路の性質などは実験的にも詳しく調べられているが、入出力を通して、一つの入力が複数の行動出力を制御する仕組みについての実験結果は類がなく、数理モデルと組み合わせることで

神経回路の理解を深める重要な成果と言える。



### 高速トラッキングシステム

さらに上記の結果を受けて、方向転換時に重要であると考えられ、AFD からの投射を受ける AIY 介在ニューロンについて、これまで難しかった微小領域 (軸索部位) での活動を測定することにより、温度走性中の神経活動と、行動の動的な関係を明らかにすることに焦点をあてた。この目的達成のために、高速トラッキングシステムを導入し、これまで開発したトラッキングとカルシウムイメージングシステムに組み入れることで自由行動下の線虫に対して、神経細胞微小領域でのカルシウムイメージングを行っている。このとき、高倍率での線虫局所部位の追尾、画像からの局所認識が必要となるため、そのためのプログラム開発もデータ取得と同時進行で進めている。得られた時系列データの解析には、これまで開発した解析プログラムを利用し、理論モデルもこれまでの実験結果から構築しているモデルに組み入れる形で再構築する予定である。



### 数理モデル・コンピューターシミュレーションとin vivo実験系の整合

動物の行動は個体ごとのばらつきが大きいので、複数個体で統計的に観測データを取得することが力を発揮することも多い。1個体の行動を詳細に解析するためのトラッキング装置に対し、100 個体程度の複数個体の行動を同時にカメラで撮影し、これを統計的に解析することで、温度情報伝達の変異体の特徴行動を特定し、特に数理モデルとの整合性を評価することを目指した。これに伴い、動画で取得したデータをコンピューターで解析することにより、個々の個体の移動を定量化、コンピューター上に再構築する手法を開発した。また、定量化した値を統計的に解析することにより、温度走性行動中の行動の時間変化についても解析を行っている。解析は理化学研究所の望月グループと共同で行い、数理解析と実験を相互にフィードバックさせることにより、より現実的なモデルの構築を進めている。これまで、温度走性行動に影響を与える変異体は最終的にどの温度に達したか、もしくは、行動軌跡を評価して判断されており、実際に温度を受容しているときにどのような行動を示

すかは詳しく調べられていなかった。上記の解析方法により、温度走性行動を定量的に記述することが可能となり、数理モデルと実験結果の整合性が取れるようになってきた。温度勾配をバイアスと考えると単純な **Biased Random Walk Model** に基づいた運動方程式を用いてコンピューターシミュレーションした結果は、これまでに 5 つ以上の研究室によって矛盾する結果が発表されていた実験結果に対し、線虫の周辺温度の温度勾配率が各研究室によって異なることに起因するということを示唆した。この理論モデルの結果とは独立に当研究室において行なっていた行動解析の結果は、線虫の高温への行動が、実際に温度勾配率によって劇的に変化することを示し(Jurado et al., 2010)、数理モデルと実験の整合性を検証できる実験系であることが示唆される。生物における数理モデル研究は実験との整合性をしっかりとっているものは少なく、定量的なデータ取得により数理モデルと実験結果を結びつける事ができることが示された。

## (2) 温度受容と温度記憶機構の分子遺伝学的解析

### 温度記憶ニューロンにおける温度受容機構の分子遺伝学的解析

温度は地球上に普遍的に存在し、生体内の化学反応に変化をもたらす最も重要な環境情報の一つである。人間であれば体温が数度上昇すると体の異変を引き起こし場合によっては生命の危機に瀕する。また、温暖化で地球の気温が上昇し生態系が深刻な影響を受けていることは世界規模で大きな問題となっている。生物が外界の温度を正確に感知し適応することは生存にとって極めて重要である。

温度受容の分子機構はここ数十年の間に著しく発展した。すなわち、カプサイシンレセプターである TRPV1 が高温域で反応する温度レセプターであるという発見を契機に、種々の TRP channel 群が様々な温度域のレセプターとして機能していることが示された。現在では、これらの分子群は THEROTRP と総称され、現在でも盛んに研究が継続されている(Caterina et al., 1999; Patapoutian et al., 2003; Lumpkin and Julius 2007)。

温度の普遍性、温度に対する生体応答の多様性をかながみると、TRP channel 群以外の未同定の分子群が温度受容装置として機能する可能性は十分に考えられる。われわれは温度受容、温度記憶の分子機構の解明を目指して遺伝学的手法を主に解析を行ってきた。

*nj8* 変異体は温度勾配上で常に低温に移動する好冷性変異体として、行動異常を指標としたスクリーニングにより単離されていた。原因遺伝子を positional cloning により同定したところ、既存の *eat-16* 遺伝子と同一であった。*eat-16* 遺伝子は、RGS (regulator of G protein signaling) とよばれる三量体 G タンパク質  $\alpha$  サブユニット(G $\alpha$ )の抑制因子をコードし、G プロテインシグナル伝達経路を遮断する機能を担う。EAT-16 の発現は多数のニューロンで観察された。

*eat-16* 変異体の異常がどのニューロンの異常により引き起こされているかを調べるために、ニューロン特異的レスキュー実験を行った。既知の温度走性に関与するニューロンに *eat-16cDNA* を発現しても表現型は回復しなかった。しかしながら、嗅覚ニューロンとして知られていたAWC感覚ニューロンに発現された場合、好冷性異常の強い回復が観察された。つまり、EAT-16 はAWC嗅覚ニューロンにおいて温度走性に関与していると考えられた。AWC は温度走性に必須な介在ニューロン AIY とシナプス結合していることが電子顕微鏡解析から明らかになってきたため(White, et al 1986)、AWCニューロンが匂い物質だけでなく温度も感知している可能性が考えられた。AWC の温度感知の有無をカルシウムイメージング法で検証した。野生型のAWCにカルシウムインディケーターカメレオンを発現させ温度変化を与えた所、温度の上昇と下降に応じてAWCニューロン内のCa<sup>2+</sup>濃度の変化が観察された。一方、AWC以外の感覚ニューロンASH、ASEではCa<sup>2+</sup>濃度の変

化がほとんど観察できなかった。このことから実際に AWC が温度受容ニューロンとして機能することが示された。*eat-16*変異体では野生型より大きな  $Ca^{2+}$ 濃度の変化が観察された。*eat-16* 変異体では、RGS の変異により標的である G $\alpha$  およびその下流のシグナル伝達経路が過剰に活性化し AWC が常に興奮状態となり、下流のニューロンに影響を与え好冷性異常を引き起こしたと解釈される。

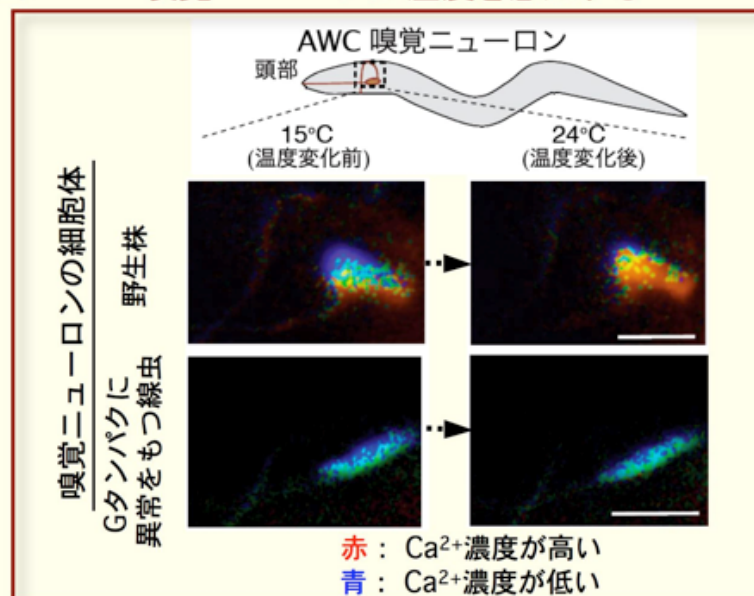
次に EAT-16/RGS の標的である G $\alpha$  の検索を行った。AWC で発現することが知られていた数種類の G $\alpha$ (Jansen, et al 1999)を野生型の AWC に過剰発現させ、*eat-16* 変異体と同様の好冷性異常が引き起こされるか検証した。その結果、G $\alpha$  である ODR-3 を過剰発現させた系統でのみ、*eat-16* 変異体と同様の表現型を示した。さらに ODR-3 の機能が失われた *odr-3* 変異体に関して温度走性を測定した所、*eat-16* 変異体とは逆の好熱性異常が観察された。カルシウムイメージングを用いた解析でも、ODR-3 を過剰発現は *eat-16* 変異体同様、野生型より大きな  $Ca^{2+}$ 濃度の変化が、*odr-3* 変異体では逆に AWC の温度応答性の顕著な低下が見られた。さらに *eat-16* 変異体の好冷性異常は *odr-3* 変異体との二重変異体で抑制された。この結果は、標的である G $\alpha$  が機能しないため EAT-16 が失われても G タンパクシグナル伝達経路が活性化しないことを意味する。以上のすべての結果から、G $\alpha$  である ODR-3 が EAT-16 の標的であり、AWC の温度受容情報伝達に関与することが示された。

AWC の嗅覚情報伝達には、前述の G $\alpha$  である ODR-3 の下流で、グアニル酸シクラーゼをコードする ODR-1、cGMP 依存性チャンネルである TAX-4 が機能することが知

られている(Roayaie, et al 2002, L'Etoile, et al 2000, Komatsu, et al 1996)。嗅覚受容で利用されているこれらの分子が AWC における温度受容に ODR-3 と同様に参与するか検証した。*odr-1* や *tax-4* 変異体と *eat-16* 変異体との二重変異体を作製した結果、*eat-16* 変異体の好冷性異常が抑制された。さらに、カルシウムイメージングにより、*tax-4* 変異体において AWC の温度応答性が顕著に低下していることが明らかになった。以上の結果から AWC ニューロンにおいて、温度と匂いの情報は共通の G タンパク質 - cGMP 経路によって伝達されることが示唆された。

前述のように *eat-16* 変異体の好冷性異常は、AWC ニューロンの以上な活性化が下流の温度走性神経回路活動に影響を与えることで引き起こされていると考えられた。そこで *eat-16* 変異体における、AWC の下流の神経回路の動態をカルシウムイメージングで検証した。その結果、*eat-16* 変異体では、AWC と直接シナプス結合している AIY 介在ニューロンの温度応答性が野生型の半分以下に低下していた。しかし、AIY とシナプス結合している AIZ 介在ニューロンでは顕著な変化は見られなかった。野生型の AIY をレーザーで破壊した場合や、AIY の発現が異常な突然変異体は、常に低温に移動することが報告されている(Mori and Ohshima 1995, Hobert, et al 1997)。したがって *eat-16* 変異体は、

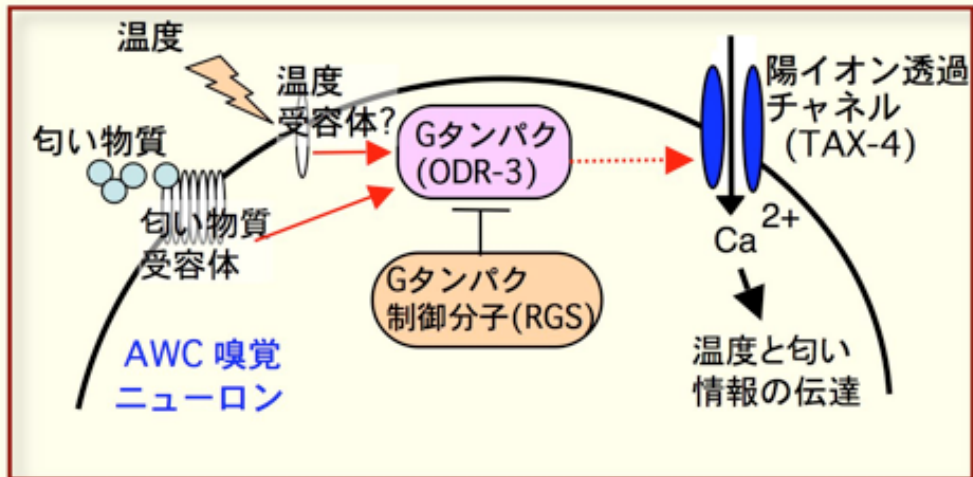
図3 嗅覚ニューロンが温度を感知する



AWCの過剰な活性化により、下流のAIYの活動性を抑制し低温に移動する異常を示すと考えられた。

今回の研究で、今まで知られていなかったGタンパク質を介した新たな温度受容機構の発見し、1つの感覚ニューロンで匂いと温度という全く異なった外界の刺激を共通の分子を利用して感知することを明らかにした。また、温度情報の神経回路内での情報処理のメカニズムを解明した(Kuhara, Okumura, et al 2008)

### 「温度」と「匂い」の情報は共通の分子で伝えられる



#### 温度受容におけるGPCRの機能

温度受容機構は、哺乳類の視細胞、嗅細胞、そして、*C. elegans* の嗅細胞で起こるシグナル伝達経路に極めて類似している。そこで、七回膜貫通タンパク質(GPCR)が *C. elegans* の温度受容分子として機能している可能性を検証するために、AFD および AWC 温度受容ニューロンに特異的に発現する GPCR をコードする *srtx-1* 遺伝子(Colosimo et al., 2004)の機能解析を行った。

*srtx-1* promoter と GFP との融合遺伝子は、先行研究(Colosimo et al., 2004)どおり AFD において強い発現が見られた。しかし、AWC での発現は左右二つの AWC のうち一方のみに限定され、その左右非対称な発現様式は stochastic に決定されていることを見いだした。また AWC における発現の強さは AFD での発現に比べ極めて弱いことを見いだした。*srtx-1* 遺伝子の欠失変異体 *srtx-1(nj62)*, *srtx-1(n63)* を単離し、行動解析を行った。野生型は餌が存在していた飼育温度に移動をするが、*srtx-1(nj62)*, *srtx-1(n63)* いずれの変異体とも 20°C、23°Cで飼育した場合、野生型に比べ低温の領域に移動する異常を示した。逆に 17°Cで飼育した場合には野生型に比べ高温域に移動する異常を示した。野生型は、低温の 17°Cから高温の 23°Cまで、過去の飼育温度に応じて、正確に飼育温度に移動する能力を有する。しかし、*srtx-1* 変異体では行動の温度レンジが大幅に狭まっていることが明らかになった。*srtx-1(nj62)*変異体の示す温度走性異常は、AFD でのみ *srtx-1cDNA* を発現させるとほぼ完全に回復したが、AWC でのみ発現させても、全く回復しなかった。したがって AFD における SRTX-1/GPCR の機能が幅広い温度レンジへの応答に必須である。温度勾配上で、過去に餌が与えられた温度付近で等温線に沿って前進運動を続けるという Isothermal Tracking 行動(IT behavior)は、*C. elegans* が温度記憶を行い、そのアウトプットを明瞭に観察できる行動である。AFD での温度受容に必須

な環状ヌクレオチド依存性チャンネルおよびグアニル酸シクラーゼが機能しない変異株では IT behavior は完全に失われる。*srtx-1(nj62)*変異体では、IT behavior を示す個体の割合は明瞭に減少し、IT が低温域にシフトするものの、IT behavior を示す能力は保持されていた。この結果は、*srtx-1* 変異体では、AFD が外界の温度を感知する能力は完全には失われておらず、AFD における温度感知が部分的に異常であることを示唆する。カルシウムイメージングにより 23°C で飼育した場合の AFD の温度に対する応答性を調べたところ、野生型と *srtx-1(nj62)*変異体は同じ温度から応答し、応答開始温度にラグが出ることはなかった。しかし、変異体では野生型に比べ温度変化に対する応答性の低下が観察された。野生型の AFD に *srtx-1cDNA* を過剰発現させその行動を調べた。SRTX-1 過剰発現株は 23°C で飼育したところ飼育温度より低温に移動する個体が大幅に増加した。一方、17、20°C で飼育したところ高温に移動する個体が大幅に増加し、一部の個体は非常に強い好熱性を示した。SRTX-1 過剰発現により AFD ニューロンの温度応答性が大きく変化したため大幅な行動変化を生じたと考えられる。

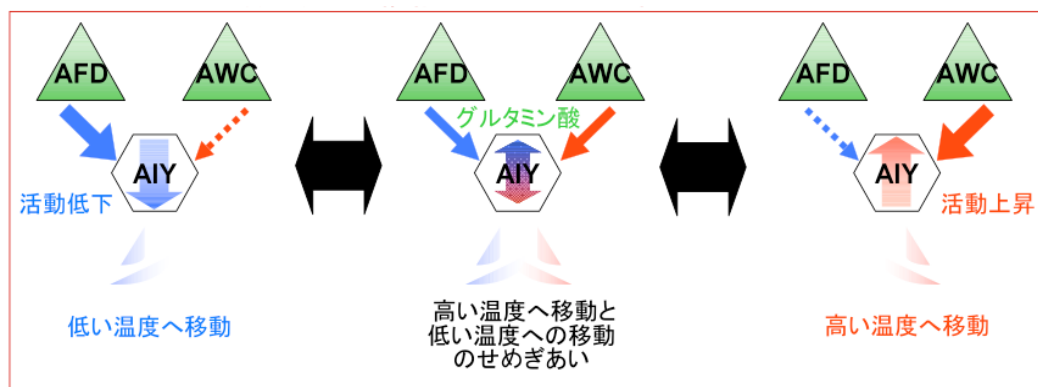
現在までの研究結果より、SRTX-1/GPCR は AFD における温度受容の Key component で、温度受容のレンジを制御している分子であると考えられる。SRTX-1 の具体的な機能としては 1) 温度受容体の一つ 2) 温度受容装置を修飾する associator のいずれかであると考察される。ごく最近、ショウジョウバエにおいて光受容体であるロドプシンが、幼虫の温度走性に重要な役割を果たしていることが報告された (Shen et al., 2011)。我々の研究結果とあわせると、温度受容における GPCR の重要性は進化の上で保存されていると考察できる。残りの期間で、嗅覚ニューロンなど温度を感知しない感覚ニューロンに異所的に発現させ温度応答性を付加するか調べる。

Isothermal Tracking 行動(IT behavior)は、*C. elegans* が温度記憶を行い、そのアウトプットを明瞭に観察できる行動である。IT の成立には AFD が必須な役割をしている (Mori and Ohshima 1995)。AFD において機能するカルシウムカルモジュリンキナーゼ I の変異体である *cmk-1* 変異体において、IT behavior は劇的に異常になる。また、*cmk-1* 変異体においては、AFD で特異的に発現する種々の遺伝子群、核内受容体をコードする *H13* 遺伝子、グアニル酸シクラーゼをコードする *gcy-8* 遺伝子、AFD 分化のマスター遺伝子で OTX ホメオドメインをコードする *ttx-1* 遺伝子の発現が軒並み低下する (Satterlee et al., 2004, Kobayashi, Sasakura, Hioki et al., unpublished data)。*cmk-1* 変異体の AFD における *H13* 遺伝子の発現低下を回復する抑制変異体のスクリーニングを行った。約 2000 ゲノムをスクリーニングし 11 系統の変異体を得た。うち表現型が顕著で興味深いと思われた、*nj72*, *nj73*, *nj78* 変異に関して解析を進めた。*nj73:cmk-1* および *nj78:cmk-1* 変異体では、*cmk-1* 変異体の IT behavior 異常が部分的に回復していた。*nj73* 変異の原因遺伝子は、転写メディエーターの構成分子をコードする *sur-2* 遺伝子であることがわかった (K. Kobayashi et al., unpublished data)。SUR-2 は、*C. elegans* の vulva formation の系において ERK pathway (RAS, RAF, MAPK) の下流で機能することが明らかにされている。カルシウムカルモジュリンキナーゼ I と ERK pathway との間に実際に遺伝学的相互作用が存在するか検討した。*cmk-1* 変異体と RAS をコードする *let-60* 変異体、RAF をコードする *lin-45* 変異体、MAPK をコードする *mpk-1* 変異体とそれぞれ二重変異体を作製し AFD における *H13* 遺伝子の発現低下回復の有無を調べた。*let-60(ras)*, *lin-45(raf)* は表現系の回復を示さなかったが、*mpk-1(mapk)* は表現系の回復を示した。つまり、AFD において *ras*, *raf* は *cmk-1* と遺伝学的に相互作用しないが、それより下流に位置する *mapk*, *sur-2* とは相互作用することが示された (Suzuki, Kobayashi, Hioki, Sasakura, Mori, unpublished data)。

#### 神経回路における情報のせめぎ合い

線虫の神経回路は電子顕微鏡レベルで構造が解明されており、302 個すべての神経細胞

に対して、どの神経細胞とつながっているかを示す神経回路マップが明らかになっている。しかしながら、機能的にそれらがどのように働いているかについては、ほとんど分かっていない。神経細胞はシナプスと呼ばれる部位で主に神経伝達物質を介して情報を他の神経細胞へと伝えるが、温度に対する応答行動に異常をもつ線虫をクローニングしたところ、神経伝達物質であるグルタミン酸を介した神経細胞間情報伝達に異常をもつ変異体(*eat-4*)を単離した。*eat-4* はグルタミン酸トランスポーターをコードする遺伝子であるが、この遺伝子がコードするタンパク質がどの神経細胞間でシグナルを伝達しているか調べたところ、温度受容神経細胞である AFD と AWC からそれらの下流に位置する神経細胞 AIY へのシグナル伝達に作用していることが分かった。興味深いことに、遺伝学的解析から、AFD から放出されるグルタミン酸シグナルは線虫を低い温度へと促す指令を担い、反対に AWC から放出されるグルタミン酸シグナルは線虫を高い温度へと促す指令を担っていることが分かった。そこで、カルシウムイメージングを利用することで AFD と AWC の温度刺激に対する神経活動の変化を、*eat-4* 変異体で観測することにより、AFD から放出される線虫を低い温度へと促す指令の正体が神経細胞 AIY の活動を抑えるシグナルであり、反対に AWC から放出される線虫を高い温度へと促す指令の正体が神経細胞 AIY の活動を抑えるシグナルであることを突き止めた。さらに AFD や AWC 特異的に遺伝子を発現させるプロモーターを使い、*eat-4* 遺伝子を細胞特異的に発現させることで、このグルタミン酸シグナルの細胞間バランスを人工的に変化させる実験を行った。これによりグルタミン酸シグナルのバランス、神経細胞 AIY の活動、線虫の行動という 3 つの要素に強い相関関係があることを明らかにした。以上の結果は、相反する指令を担うシグナルのバランスが下流に位置する神経細胞の活性を制御することにより、最終アウトプットである行動を決定するという情報処理システムの存在を強く支持し、神経科学における新たな概念を提唱することとなった。この成果は **functional connectomics** と呼ばれる神経科学の新しいパラダイムに先駆けるものであり、本プロジェクトの成果としても重要な位置を占める。

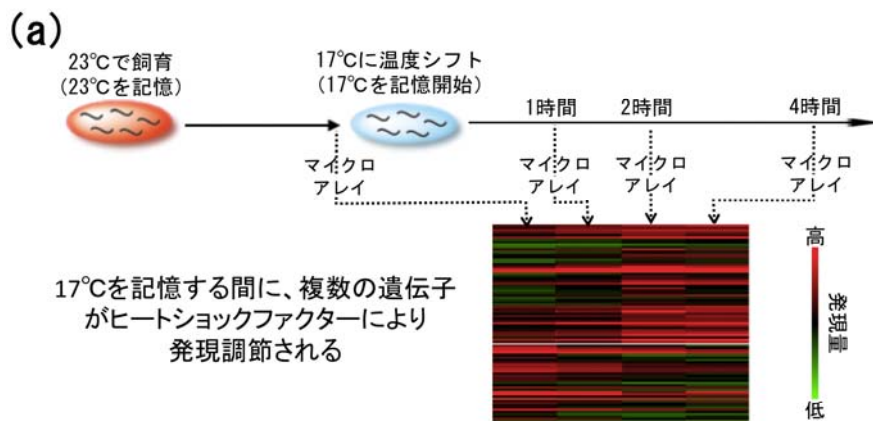


#### 温度受容と温度記憶機構解明のためのマイクロアレイ解析

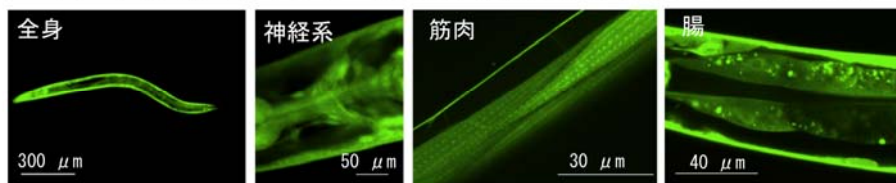
温度記憶が形成される間にどのような遺伝子が働くかを調べるため、マイクロアレイ法を用いてゲノムワイドに調べた。具体的には、23°Cで餌のある環境で飼育し、17°Cに移す直前の線虫(17°C飼育 0 時間、つまり 23°Cを記憶した線虫)と、17°Cに移して 4 時間後の線虫(17°C飼育 4 時間、つまり 23°Cの記憶が 17°Cの記憶に変化した線虫)の間の遺伝子発現の差をマイクロアレイにより調べた。変動した 79 遺伝子には、複数の遺伝子のプロモーター領域に転写因子 *hsf-1* の結合エレメントが確認された。*hsf-1* (*heat shock factor-1*) は、ヒートショックに反応し、下流遺伝子の転写を活性化もしくは不活性化することが報告されているが、これまで、HSF因子が記憶形成や行動可塑性に関わるという報告は皆無であった。そこで、機能低下型変異株 *hsf-1(sy441)* について温度走性を調べたところ、*hsf-1* 変異体では、23°Cで飼育しても、温度勾配上で 23°Cに移動できないという異常を示した。この温度走性異常は、温度走性神経回路を構成する一部のニューロンだけでなく、体壁筋、腸において、HSF-1 を発現させることによって回復したことから、HSF-1 による温度感知機



構は、非神経系細胞を含む全身性で働き、下流遺伝子からのシグナル経路は細胞非自律的に作用することがわかった。さらに、**HSF-1** の下流遺伝子として、従来のヒートショック反応性遺伝子以外に、様々な機能を持つ遺伝子を同定し、これらの遺伝子の変異体は温度走性行動に異常を示した。以上の結果から、我々は、生存可能な温度を、**HSF-1** 転写因子を介して受容すると、多くの遺伝子の発現が変動し、その結果、行動を生み出す神経回路が制御されるという仮説に行き着いた。さらに、分子遺伝学的手法とカルシウムイメージングにより、この仮説の検証を行った結果、**HSF-1** による温度シグナルは、従来の温度走性神経回路内のAFDとAWCのcGMP依存性シグナルを変化させることにより、行動の変化を導くという興味深い結果を得た。このシグナル経路は女性ホルモンとして知られるエストロゲンシグナルの変化を介し、細胞非自律的に、神経回路内の温度受容ニューロンAFDに保持された温度記憶を変化させ、行動の変化を導くという極めて新規性の高い結果を得た。従来の概念では「環境刺激は、感覚ニューロンにより受容される」ということが一般的であったが、本研究から「体細胞が、感覚ニューロンと同様に、温度を感知し、神経回路内の活動をコントロールし、個体の行動を変化させる」という新たな概念をもたらした (Sugi et al., 2011)。



(b) ヒートショックファクターは体のいたるところで発現し、温度を感知



#### CREBを介した単一細胞での記憶形成機構

当研究室の過去のカルシウムイメージングを用いた生理学的な解析から、温度受容ニューロン AFD は、温度上昇に対し、過去の飼育温度に依存した反応を示すことが分かった (Kimura et al., 2004)。この結果から、AFD は、自身の中で記憶を成立させる可能性が示唆されている。この仕組みを分子レベルで実証することを目指し、機能分子の特定を試みた。過去の研究から、AFD における主要シグナル伝達経路の下流で、動物の記憶に深く関わることが知られる CREB (cAMP responsible element binding protein) の *C. elegans* オルソログ CRH-1 が機能することが予測されたことから、まず *crh-1* 変異体の温度走性行動を調べた。つまり、CREB 依存的な記憶が AFD に存在する可能性についての検証を行なった。その結果、*crh-1* 変異体は、17°Cで飼育された場合は野生株と同様の行動を示したが、20°Cもしくは 23°Cで飼育された場合、直線温度勾配上を分散、または、野生株より低温の区画に移動する顕著な異常を示した。さらに、驚くべきことに、*crh-1* (*tz2*)変異体の温度走性異常は、AFD にのみに CRH-1 を発現させた場合、完全に回復

が見られ、その他のニューロンに発現させた場合、全く回復が見られなかった。また、野生株の AFD においてドミナントネガティブ型の *crh-1cDNA* を発現させることで、23°C を記憶する過程に要する時間が遅くなる異常が観察された。カルシウムイメージングにおいては、*crh-1(tz2)* 変異体では、AFD の温度に対する応答に異常が見られた。これらの結果は、CREB 依存的な温度記憶が、AFD のみに保持される可能性を示す画期的な結果であった (Nishida, Sugi et al., 2011)。これらの研究から、CREB/CRH-1 依存的な記憶形成機構を単一細胞で解析することが出来るモデルシステムとなることが期待される。現在、CREB の下流遺伝子の候補として、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase をコードする *catp-3* 遺伝子が単離されており、AFD における CATP-3 の役割の解析を進めることでさらなる研究成果の発展が見込める。

## (2)研究成果の今後期待される効果

本プロジェクトでは様々な測定機器を開発することで、新たな生命現象の発見が生まれた。そのため、開発した測定・実験機器を利用することでさらなる発見を生み出す事や、発展的な研究を円滑に進めることが期待される。

3D ステージを利用した多点イメージングシステムは、当然のことながら、これまで解析を行った神経細胞以外にも利用することができる。温度走性については、例えば神経回路の中でも、より行動出力に近い位置に存在する AIY と RIA 介在神経細胞の同時イメージングなど、興味深い組み合わせで神経活動を測定することも考えられる。理論的には平面を形成する 3 点まで神経細胞を同時に観測焦点面に捉えることができるため、3 つの神経間でやりとりする情報を捉える事ができるかもしれない。また、温度走性に関わる神経回路に限らず、様々な他の神経回路における研究にとっても強力な武器となるため、3D ステージを利用することで特定の神経細胞を標的とした、様々な神経回路研究が発展することが期待される。

自由に行動する個体を顕微鏡視野内に捉え続けるトラッキングシステムは、行動の評価を必要とする研究に加えて、カルシウムイメージングと組み合わせた動的な神経活動を観測する研究や、HR、ChR などのオプトジェネティクスと組み合わせて神経回路を操作する必要のある研究において強力な観測手法を提供する。発展的には、プロジェクトなどに使われるデジタルミラーデバイスと組み合わせることで、時空間的に特異な光操作を行うこともでき、それが実現すれば、特定の神経細胞を任意のタイミングで活性化させたり不活性化させたりすることが可能となる。この様なシステムはショウジョウバエの幼虫など、他のモデル生物に適用することも容易であるため、より一般的に、神経科学において重要な方法論となる。この様な研究が発展することにより、行動を制御する動的な神経回路機能、つまりは行動を生み出す神経回路での情報処理機構が明らかになると考えられる。これらの成果は、マウスや人間などのより複雑な神経回路における情報処理機構を理解する上で重要な基盤となる。また同様の成果は、工学的にはマイクロロボット的设计などに利用することで、これまでの人工的な制御システムよりも、環境の変化などに強い、自然に適合した制御機構の開発に繋がることも期待される。

HR、ChR の研究に用いられた照明装置はガルバノシャッターやパルスジェネレーターにより高速な制御で任意の光刺激を与えることができるため、オプトジェネティクスを使った研究に幅広く使うことができる。オプトジェネティクスに使われる HR などのタンパク質は開発が盛んで、近年、性質や機能の違ったものが数多く生み出されている。新しく開発されたこれらのタンパク質を効果的に利用するには様々な条件で光刺激を与えることのできる照明装置が必要であるが、本プロジェクトで開発した照明装置を使うことで幅広く対応することができる。そのため現在開発中のオプトジェネティクスに使われるタンパク質を効率的に利用

することで、これまで不可能だった実験計画を実現することが可能となる。例えば、HR と ChR を別々の神経細胞に同時に発現させた個体を用いて、一方の神経細胞を活性化し、他方の神経細胞を抑制する実験なども実現が期待される。このような方法で部分的な神経回路へ任意のタイミングで揺動を与え、神経回路の動的な性質が明らかになる可能性もある。

トラッキングシステムをより発展させた高速トラッキングシステムは、神経突起など微小領域においても、自由行動する個体のイメージングを可能にさせる。高倍率のレンズでは焦点深度が浅いため、高速オートフォーカスなどと組み合わせることが必要であるが、それにより介在神経細胞など、これまで行動中は観測できなかった神経細胞でのカルシウムイメージングが実現できる。行動中の活動計測を様々な神経細胞で行うことにより、神経回路の動的な機能の理解が進むことが期待できる。特に介在神経細胞では高度な情報処理が行われていることが予想されるため、行動中の神経活動計測の意義は大きい。

本プロジェクトではイメージングで得られたデータをコンピューターで画像処理することで定量的な情報を抽出し、これまでの手法では得られなかった動的な性質を明確に可視化することを可能にした。この戦略は行動に関する様々な研究に応用することができる。これまで定量化や認識が難しかった動的な性質について、客観的に評価できるため、例えば古典的な変異体スクリーニングに利用するだけでも、新たな変異体が発見できる可能性がある。さらに、オプトジェネティクスを使った神経回路への揺動は、人の目で評価しにくい微妙な変化として行動に現れる可能性も多々あるが、この様な画像解析を利用することにより、客観的に行動の微妙な変化を判断することができる。

本プロジェクトでは数理モデルやコンピューターシミュレーションを利用したシステムのアプローチにより神経回路の動態を解明することを目指した。そのため実験結果と整合させながら数理モデルを構築することを進めたが、この様なアプローチは今後の生命科学の主流となることが予想される。そして本プロジェクトの成果やアプローチは、その様な今後の生命科学における、数理モデルと実験の関係におけるロールモデルとなることが期待できる。

ThermoTRP と総称される TRP channel 群による温度受容機構は、ここ十年のあいだ爆発的に進展してきた。しかしながら、今回の CREST 研究で明らかにされたように *C. elegans* の温度受容ニューロン AFD と AWC においては cGMP を二次メッセンジャーとした G タンパク質シグナリングを利用しており、TRP channel を介した温度受容機構とは明らかに異なる。実際、*C. elegans* の TRP channel をコードする遺伝子の中で AFD あるいは AWC に特異性をもって発現するものは存在しない。今後、AFD および AWC の G タンパク質シグナリングによる温度受容機構の全容の解明は生物学的に重要である。*C. elegans* で最初に発見されたアポトーシスや軸索誘導の分子機構が哺乳類にも保存されていたことを鑑みると、G タンパク質シグナリングによる温度受容機構が、哺乳類での温度受容機構、例えば、脳深部での温度受容や血流の温度受容などに保存されている可能性は十分考えられる。

グルタミン酸トランスポーターをコードした *eat-4* 遺伝子による AFD-AIY 間、AWC-AIY 間の情報伝達に関する研究は、functional connectomics の典型的な成果となったが、この神経細胞間に存在する他のシグナル経路やレセプターの存在を示唆する新たな問題を提起した。そのため、グルタミン酸シグナルに対応するレセプターについて変異体解析を進めることで、神経細胞間の情報伝達に関する理解がさらに深まることが期待できる。神経伝達物質としてのグルタミン酸シグナルはヒトを含む高等生物でも保存されているため、これらのグルタミン酸シグナルのシナプスにおける情報伝達機構の理解が進めば、人間の脳

における情報処理機構の解明も大きく前進することになる。人間の脳における情報処理機構は全くと言っていいほど理解が進んでいないため、モデル生物である線虫により分子レベルで行動制御や情報処理の仕組みが解明できれば、より複雑な人間に対する研究の突破口となることも期待できる。

マイクロアレイを用いたゲノムワイドな遺伝子解析の研究により、温度感知と温度記憶に関わることが見出されたヒートショックファクターやエストロゲンは、ヒトにも保存されている分子である。したがって、全身性の温度受容システムと、エストロゲンによる神経回路上の情報伝達の変化の仕組みは、人間にも備わっている可能性が十分に考えられる。特に、女性ホルモンであるエストロゲンは、乳癌や子宮癌など多くの重大疾患の要因となる分子であり、本研究をもとに、今後、温度と神経回路における情報の流れの変化と、乳癌をはじめとする疾患の関係性について、新たな研究が展開されることが期待される。

これまで、温度走性行動に必須な分子は複数、同定されてきたが、温度記憶の分子基盤については、まだ未解明の部分が多く残されている。本プロジェクトで実施された CREB に関する研究から、動物の記憶学習に関わる転写因子 CREB/CRH-1 が、*C. elegans* の温度走性行動においても必須であることが明らかになった。これは、*C. elegans* が、高等動物と同様の記憶形成機構を保持している可能性を意味し、CREB/CRH-1 依存的な記憶のメカニズムの解析を可能にする、非常にシンプルなモデルシステムを提唱するものである。これまで、記憶の実体を担うと考えられる CREB の下流遺伝子については、あまり多くの知見は得られていない。そこで、現在、温度記憶の形成過程において、マイクロアレイ解析を用いて野生株と *crh-1* 変異体の遺伝子発現パターンをゲノムワイドに比較検討することで、CRH-1 の下流遺伝子の網羅的な探索を行っている。これら一連の研究から、記憶の実体を担う分子機能を明らかにすることで、高等動物における記憶のメカニズムを解き明かす基盤となることが期待できる。

## § 5 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0件、国際(欧文)誌 7件)

1. Kuhara, A., Okumura, M., Kimata, T., Tanizawa, Y., Takano, R., Kimura, K.D., Inada, H., Matsumoto, K. and Mori, I., Temperature sensing by an olfactory neuron in a circuit controlling behavior of *C. elegans*. *Science* 320, 803-807 (2008). doi: 10.1126/science.1148922
2. Jurado, P., Kodama, E., Tanizawa, Y., Mori, I., Distinct thermal migration behaviors in response to different thermal gradients in *Caenorhabditis elegans*. *Genes, brain, and behavior* 9, 120-7 (2010). DOI: 10.1111/j.1601-183X.2009.00549.x
3. Ohnishi, N., Kuhara, A., Nakamura, F., Okochi, Y. and Mori, I., Bidirectional regulation of thermotaxis by glutamate transmissions in *Caenorhabditis elegans*. *EMBO J.* 30(7), 1376-1388 (2011). doi:10.1038/emboj.2011.13
4. Miyara, A., Ohta, A., Okochi, Y., Tsukada, Y., Kuhara, A., Mori, I., Novel and Conserved Protein Macoilin Is Required for Diverse Neuronal Functions in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet* 7(5), e1001384 (2011). doi:10.1371/journal.pgen.1001384
5. Kuhara, A., Ohnishi, N., Shimowada, T., Mori, I., Neural coding in a single sensory neuron controlling opposite seeking behaviours in *Caenorhabditis elegans*. *Nat. Commun.* 2:355 (2011). doi:10.1038/ncomms1352
6. Sugi, T., Nishida, Y., Mori, I., Regulation of behavioral plasticity by systemic temperature signaling in *Caenorhabditis elegans*. *Nat. Neurosci.* 14, 984-992 (2011). doi:10.1038/nn.2854
7. Nishida, Y., Sugi, T., Nonomura, M., Mori, I., Identification of the AFD neuron as the site of action of the CREB protein in *Caenorhabditis elegans* thermotaxis. *EMBO reports*, 12, 855-862 (2011). doi:10.1038/embor.2011.120

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

詳細情報

1. 久原篤, 笹倉寛之, 木全翼, 森郁恵, "温度学習行動の分子神経回路メカニズム" 蛋白質核酸酵素 増刊号 神経の分化, 回路形成, 機能発現, Vol. 53, No.4, 580-586 (2008).
2. 久原篤, 森郁恵, "線虫*C. elegans*の温度走性をもちいた感覚と学習行動の遺伝学的研究" 生物物理, 48 (3), 167-173 (2008).
3. 久原篤, 森郁恵, "線虫に置けるGタンパクを介した温度感知行動" 細胞工学 特集号 行動を支配する遺伝子, Vol.27 No.11, 1106-1111 (2008).
4. 久原篤, 木全翼, 森郁恵, "神経回路の活動と接続のライブイメージング", 宮脇敦史 編, 実験医学 増刊号 ライブイメージングで解き明かす多彩な生命現象, Vol.26 No.17, 89-95 (2008).
5. Mori I., A single sensory neuron directs both attractive and repulsive odor preferences. *Neuron* 59, 839-840 (2008). doi:10.1016/j.neuron.2008.09.016
6. Mori, I., Sasakura, H., Aging: shall we take the high road? *Current Biology* 12;19(9), R363-4 (2009). DOI:10.1016/j.cub.2009.03.040

(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 9 件、国際会議 9 件)

1. Mori, I. (Nagoya Univ.), System Dynamics of Neural Circuit Governing Behavior, Janelia Farm Research Conference on Neural Circuit and Behavior in *C. elegans*. Organized by Sydney Brenner et al., Ashburn, USA, 2007.03.24-28
2. Kuhara, A., Okumura, M., Kimura, K. D., Matsumoto, K., Mori, I. (Nagoya Univ.), G protein-coupled novel temperature sensing mechanism, Neuro 2007, Yokohama, Japan, 2007.09.10-12
3. 久原篤, 奥村将年, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. エレガンス*の嗅覚ニューロンにおける G タンパクを介した温度受容メカニズム, 第 30 回 日本分子生物学会年会(BMB 2007), 横浜, 2007.12.11-15
4. Mori, I. (Nagoya Univ.), Comprehensive Studies on a Neural Circuit for Worm Thermotaxis, CDB Symposium: Turning Neurons into a Nervous System, Kobe, Japan, 2008.03.24-26
5. \*Mori, I. (Nagoya Univ.), Comprehensive analysis of neural circuit controlling behavior in *C. elegans*, Gordon Research Conference “Molecular & Cellular Neurobiology” at Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong, 2008.06.08-13
6. Mori, I. (Nagoya Univ.), Calcineurin is required for behavioral plasticity in *C. elegans*, FASEB Summer Research Conference “Calcium and Cell Function” at Snowmass Village, Colorado, USA, 2008.07.06-11
7. Mori, I. (Nagoya Univ.), Components orchestrating the neural circuit for behavior, Janelia Farm Research Conference “Neural circuits and Behavior in *C. elegans* II: Towards the Ultimate Model” at HHMI Janelia Farm Research Campus, Ashburn, Virginia, USA, 2009.03.08-11
8. 久原篤, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 温度感知行動を司る神経回路システムー分子生理学者が目指すシステムズバイオロジーー, 生理研研究会, 岡崎, 2009.07.16-18
9. 久原篤, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 特定のグルタミン酸シナプス伝達を制御する神経の暗号, 生理研研究会 「光を用いた神経活動の操作ー操作法開発から神経回路研究への応用ー», 岡崎, 2009.09.03-04
10. Mori, I. (Nagoya Univ.), Neural coding of behaviors in *C. elegans*, ISDB2009, Edinburgh, UK, 2009.09.06-10
11. Mori, I. (Nagoya Univ.), Neural circuits regulating *C. elegans* memory-based behavior, 第 4 回 MCCS-Asia シンポジウム, 名古屋, 2009.09.15
12. Mori, I. (Nagoya Univ.), Neural coding of temperature memory-regulated behavior in *C. elegans*, グローバル COE プログラム「システム生命科学の展開: 生命機能の設計」国際シンポジウム “Frontiers of Genes, Neural Circuits and Behavior”, 名古屋, 2009.11.18-19
13. 久原篤, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 神経活動の定量的光操作から見えてきた神経の暗号, 定量生物学の会 第二回年会, 大阪大学, 大阪, 2010.01.09-11
14. 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫における神経コード, 平成 21 年度「バイオ分子センサー」連携研究公開シンポジウム, 自然科学研究機構 岡崎カンファレンスセンター中会議室, 岡崎, 2010.01.15
15. 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫の行動と神経回路動態の解析から脳に迫る, 日本比較生理生化学会第32大会公開シンポジウム「分子を感じ, 分子に応える生物のしくみ」, 福岡, 2010.07.18
16. 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫行動を制御する神経回路の動作原理

- 解明を目指して, 理研 ASI 細胞システムコロキウムシリーズ「理論生物学」第8回「線虫の高次行動」,和光, 2011.01.07
17. 塚田祐基(名古屋大学大学院理学研究科), 「線虫の温度走性をモデルとした,行動と神経情報処理システムの定量解析」(ワークショップ定量計算システム生物学)分子生物学会年会 BMB2010, 神戸, 2010.12.08
  18. 森 郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫から知る脳のしくみ, 第 34 回日本分子生物学会市民公開講座「心とからだの生物学」,横浜,2011.12.13-16

② 口頭発表 (国内会議 29 件,国際会議 6 件)

1. 久原篤, 奥村将年, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), G タンパクを介した温度受容メカニズムと温度情報伝達の機能的神経回路, 日本遺伝学会第 79 回大会, 岡山, 2007.09.19-21
2. 鈴木啓太, 笹倉寛之, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* の温度受容ニューロン AFD における GFP マーカーの発現を指標とした新規温度走性異常変異体の単離と解析, 日本遺伝学会第 79 回大会, 岡山, 2007.09.19-21
3. Kuhara, A., Okumura, M., Okazaki, A., Tachikawa, S., and Mori, I. (Nagoya Univ.), G protein-coupled temperature sensing by an olfactory neuron in *C. elegans*, *Neuro* 2008, 東京, 2008.07.03-05
4. 笹倉寛之, 鈴木啓太, 伊藤浩子, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科) *C. elegans* 温度受容ニューロンに特異的に発現するG タンパク共役型受容体(GPCR)の解析, 日本遺伝学会第80回大会, 名古屋, 2008.09.03-05
5. 岡崎史子, 久原篤, 立川さやか, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* におけるGα を介した温度受容機構に関する新規変異の解析, 日本遺伝学会第80回大会, 名古屋, 2008.09.03-05
6. 宮良晶子, 太田茜, 大河内善史, 奥村将人, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 種を超えて保存された新規因子TTX-8 の神経細胞における機能解析, 日本遺伝学会第80回大会, 名古屋, 2008.09.03-05
7. 大西憲幸, 久原篤, 奥村将年, 大河内善史, 稲田仁, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫の温度情報処理を制御する神経回路におけるグルタミン酸作動性シナプス伝達の解析, 日本遺伝学会第80回大会, 名古屋, 2008.09.03-05
8. 下和田智康, 久原篤, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 光駆動性チャネルをもちいた線虫 *C. elegans* の温度走性に関わる神経回路の活性調節, 日本遺伝学会第80回大会, 名古屋, 2008.09.03-05
9. 西尾奈々, 毛利亮子, 児玉英志, 木村幸太郎, 久原篤, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), *C. elegans* において,新規加水分解酵素AHO-3 は温度と餌条件の連合学習に関与する, 日本遺伝学会第80回大会, 名古屋, 2008.09.03-05
10. 延命大士, 西尾奈々, 赤坂茉莉, 久原篤, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), *C. elegans* の新規温度走性変異体nj24 の解析, 日本遺伝学会第80回大会, 名古屋, 2008.09.03-05
11. フラドパオラ, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), *Insights into the molecular mechanisms of Caenorhabditis elegans memory*, 日本遺伝学会第80回大会, 名古屋, 2008.09.03-05
12. 後藤冬樹, フラドパオラ, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* における温度走性行動を基にした意思決定(Decision making)に異常を示す変異体, 日本遺伝学会第80回大会, 名古屋, 2008.09.03-05

13. 杉拓磨, 西田征央, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫*C. elegans* における温度受容から温度記憶の形成への変換に関する転写連動モデル, 日本遺伝学会第80回大会, 名古屋, 2008.09.03-05
14. 西田征央, 杉拓磨, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫*C. elegans* の記憶形成におけるタンパク質の翻訳後修飾の役割の解明, 日本遺伝学会第80回大会, 名古屋, 2008.09.03-05
15. 木全翼, 久原篤, 谷澤欣則, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫*C. elegans* の中枢介在ニューロンにおけるイノシトールを介したシナプス細胞内局在機構の遺伝学的解析, 日本遺伝学会第80回大会, 名古屋, 2008.09.03-05
16. 大西憲幸, 久原篤, 奥村将年, 大河内善史, 稲田仁, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫の温度走性を支配する神経回路におけるグルタミン酸作動性シナプスを介した神経伝達経路の制御, BMB2008 (第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会), 神戸, 2008.12.09-12
17. 杉拓磨(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* における記憶行動を制御する全身性温度受容メカニズムの同定, 生物物理学会・北海道支部講演会, 札幌, 2009.06.17
18. 杉拓磨(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* における記憶行動を制御する全身性温度受容メカニズムの同定, 生体分子科学討論会, 小樽, 2009.06.18-20
19. 笹倉寛之, 鈴木啓太, 伊藤浩子, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), *C. elegans* 温度受容ニューロンにおいて広いレンジの温度受容を制御する G タンパク共役型受容体(GPCR)の解析, 日本遺伝学会第81回大会, 松本, 2009.09.16-18
20. 延命大士, 笹倉寛之, 西尾奈々, 赤坂茉莉, 久原篤, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* のイネキシン *inx-4* 変異体の温度走性行動解析, 日本遺伝学会第81回大会, 松本, 2009.09.16-18
21. 西田征央, 杉拓磨, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* の記憶形成過程における分子神経基盤の解明, 日本遺伝学会第81回大会, 松本, 2009.09.16-18
22. Jurado, P., Mori, I. (Nagoya Univ.), Insights into the mechanisms of *Caenorhabditis elegans* memory, 2009 European Conference on Nematode Neurobiology, Cambridge, UK, 2009.09.21-23
23. 杉拓磨, 西田征央, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), Regulation of a neural circuit for thermotactic behavior by non-neuronal cells, 第32回分子生物学会年会, 横浜, 2009.12.09-12
24. 杉拓磨(名古屋大学大学院理学研究科), 非神経細胞は温度走性行動を規定する神経回路を制御する, 第62回日本細胞生物学会大会, 大阪, 2010.05.19-21
25. 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 「行動を規定する神経回路システム動態の研究」戦略的創造研究推進事業(CREST タイプ)「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域平成22年度公開シンポジウム, 東京, 2010.06.01
26. 笹倉寛之(名古屋大学大学院理学研究科), *C. elegans* の温度受容ニューロンを制御する G タンパク共役型受容体(GPCR)の解析, 日本遺伝学会第82回大会, 札幌, 2010.09.20-23
27. 古田智敬(名古屋大学大学院理学研究科), *C. elegans* において *ttx-4* 変異体が表示好熱性異常を抑圧する変異体の解析, 日本遺伝学会第82回大会, 札幌, 2010.09.20-23
28. 小林曉吾(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* の初代培養細胞を用いた温度受容ニューロンにおける温度記憶形成の検証, 日本遺伝学会第82回大会, 札幌, 2010.09.20-23
29. 中村文哉(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* の温度走性神経回路における情報処理機構の解析, 日本遺伝学会第82回大会, 札幌, 2010.09.20-23



30. 杉拓磨(名古屋大学大学院理学研究科), Gene expression dynamics that regulates *C. elegans* behavioral memory, BMB2010, 神戸, 2010.12.07-10
31. 笹倉寛之(名古屋大学大学院理学研究科), Regulation of thermosensation by SRTX-1(GPCR) in AFD thermosensory neurons, The 4th East Asia *C. elegans* Meeting, 東京, 2010.07.11-14
32. JURADO, P.(Nagoya Univ.), Insights into the molecular mechanisms of *Caenorhabditis elegans* memory, The 4th East Asia *C. elegans* Meeting, 東京, 2010.07.11-14
33. 小林暁吾(名古屋大学大学院理学研究科), Attempts to study the response for temperature stimuli in cultured thermosensory neuron AFD, The 4th East Asia *C. elegans* Meeting, 東京, 2010.07.11-14
34. Tsukada, Y., Shimowada, T., Ohnishi, N., Kuhara, A. and Mori, I.(Nagoya Univ.), Long term calcium imaging of AFD thermosensory neuron revealed behavioral strategy for exploratory movements during thermotaxis, the 18th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2011.06.22-26
35. 西尾奈々, 毛利・塩見 亮子, 平松尚也, 児玉・南波英志, 木村幸太郎, 久原篤, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* において、新規加水分解酵素 AHO-3 は行動可塑性を制御する (Novel palmitoylated hydrolase AHO-3 regulates integrative behavior for temperature and feeding state in *C. elegans*), 第34回日本神経科学大会, 横浜, 2011.09.14-17

③ ポスター発表 (国内会議 30件, 国際会議 27件)

1. Kuhara, A., Okumura, M., Kimura, K. D., & Mori, I.(Nagoya Univ.), Novel temperature sensing mechanism through G protein-coupled signaling, Neural Circuits and Behavior in *C. elegans*, Ashburn, USA, 2007.03.25-28
2. Kuhara, A., Ohnishi, N., Kodama, E., Mori, I.(Nagoya Univ.), Calcium imaging of the thermotaxis neural circuit: toward combinatorial feed back analysis between in vivo neurobiology and in silico computation, The 16th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2007.06.27-07.01
3. Kuhara, A., Okumura, M., Kimura, K. D., Matsumoto, K., Mori, I.(Nagoya Univ.), Olfactory neuron senses temperature through the G protein-coupled signaling, The 16th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2007.06.27-07.01.
4. Sasakura, H., Suzuki, K., Itoh, H., Sugi, T., Mori, I.(Nagoya Univ.), Analysis and screening of genes involved in thermosensory signaling, The 16th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2007.06.27-07.01
5. 大西憲幸, 久原篤, 奥村将年, 大河内善史, 稲田仁, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫の温度情報処理に関わる神経回路におけるグルタミン酸を介した頭部運動ニューロンの制御機構の解析, *Neuro 2007*, 横浜, 2007.09.10-12
6. 鈴木啓太, 笹倉寛之, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* の温度受容ニューロン AFD における GFP マーカーの発現を指標とした新規温度走性異常変異体の単離と解析, 日本遺伝学会第 79 回大会, 岡山, 2007.09.19-21
7. 久原篤, 奥村将年, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* の嗅覚ニューロンにおける G タンパクを介した温度受容メカニズム, 第 30 回 日本分子生物学会年会 (BMB 2007), 横浜, 2007.12.11-15.
8. 鈴木啓太, 笹倉寛之, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* の温度受容ニューロン AFD における GFP マーカーの発現を指標とした新規温度

- 走性異常変異体の単離と解析, 第 30 回 日本分子生物学会年会 (BMB 2007), 横浜, 2007.12.11-15.
9. Kuhara, A., Okumura, M., and Mori, I. (Nagoya Univ.), Integrative analysis on G protein-coupled temperature sensation in *C. elegans*, Gordon Research Conference “Molecular and Cellular Neurobiology”, Hong Kong, 2008.06.08-13
  10. 西尾奈々, 毛利亮子, 児玉英志, 木村幸太郎, 久原篤, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫*C. elegans*における, 温度と餌条件の連合学習に関する遺伝子 $aho-3$ の解析 (Analysis of  $aho-3$  gene that plays a role in an associative learning between cultivation temperature and feeding state in *C. elegans*), Neuro2008, 東京, 2008.07.09-11
  11. 宮良晶子, 太田茜, 大河内善史, 奥村将年, 高野良, 久原篤, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 種を超えて保存されている新規因子TTX-8の神経における機能解析 (Studies on neuronal function of a novel and conserved protein TTX-8), Neuro2008, 東京, 2008.07.09-11
  12. Kuhara, A., Shimowada, T., Ohnishi, N., Mori, I. (Nagoya Univ.), Exploring the neural code in thermosensory neural circuit, Janelia Farm Research Conference “Neural circuits and Behavior in *C. elegans* II: Towards the Ultimate Model” at HHMI Janelia Farm Research Campus, Ashburn, Virginia, USA, 2009.03.08-11
  13. Miyara, A., Ohta, A., Okochi, Y., Tsukada, Y., Kuhara, A. Mori, I. (Nagoya Univ.), Studies on neuronal function of a novel and conserved protein TTX-8, the 17th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2009.06.24-28
  14. Nishio, N., Mohri, A., Kodama, E., Kimura, K., Kuhara, A. Mori, I. (Nagoya Univ.), Novel hydrolase AHO-3 has a role in the temperature-food associative learning behavior in *C. elegans*, the 17th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2009.06.24-28
  15. Okazaki, A., Kuhara, A., Tachikawa, S. Mori, I. (Nagoya Univ.), Mapping suppressor of the  $eat-16$  mutant defective in G protein-coupled thermosensation, the 17th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2009.06.24-28
  16. Emmei, T., Sasakura, H., Nishio, N., Akasaka, M., Kuhara, A. Mori, I. (Nagoya Univ.), Analysis of a novel type of thermotaxis mutant  $nj24$ , the 17th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2009.06.24-28
  17. Kobayashi, K., Sasakura, H., Suzuki, K. Mori, I. (Nagoya Univ.), Analysis of thermotactic-defective mutants isolated by GFP marker that detects abnormality of thermosensory signal transduction in AFD, the 17th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2009.06.24-28
  18. Furuta, T., Kuhara, A. Mori, I. (Nagoya Univ.), Isolation of suppressors for the thermophilic defect of  $nPKC$  mutant, the 17th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2009.06.24-28
  19. Kuhara, A., Shimowada, T., Ohnishi, N., Mori, I. (Nagoya Univ.), Exploring the neural code in the neural circuit for thermotaxis behavior, the 17th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2009.06.24-28
  20. Tsukada, Y., Miyara, A., Shimowada, T., Ohnishi, N., Kuhara, A. Mori, I. (Nagoya Univ.), Quantitative behavioral analysis of freely moving *C. elegans*, the 17th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2009.06.24-28

21. Tsukada, Y., Miyara, A., Shimowada, T., Ohnishi, N., Kuhara, A., Mori, I. (Nagoya Univ.), Quantitative behavioral analysis of freely moving *C. elegans*, the 17th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2009.06.24-28
22. Kimata, T., Kuhara, A., Tanizawa, Y., Mori, I. (Nagoya Univ.), Investigating the Phosphatidylinositol signaling underlying subcellular localization of synapses, the 17th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2009.06.24-28
23. Tsukada, Y., Miyara, A., Shimowada, T., Ohnishi, N., Kuhara, A., Mori, I. (Nagoya Univ.), Quantitative behavioral analysis of freely moving *C. elegans*, 第 19 回日本数理生物学会年会, 東京, 2009.09.09-11
24. Kuhara, A., Shimowada, T., Ohnishi, N., Mori, I. (Nagoya Univ.), Neural code underlying excitatory and inhibitory synaptic transmission in temperature-sensing neuron essential for temperature memory-governed behavior, 第 4 回 MCCA-Asia シンポジウム, 名古屋, 2009.09.15
25. Tsukada, Y., Miyara, A., Shimowada, T., Ohnishi, N., Kuhara, A., Mori, I. (Nagoya Univ.), Quantitative behavioral analysis of freely moving *C. elegans*, 第 4 回 MCCA-Asia シンポジウム, 名古屋, 2009.09.15
26. Kobayashi, K., Sasakura, H., Suzuki, K., Mori, I. (Nagoya Univ.), Analysis of thermotactic-defective mutants isolated by GFP marker that detects abnormality of thermosensory signal transduction in AFD, 第 4 回 MCCA-Asia シンポジウム, 名古屋, 2009.09.15
27. Kuhara, A., Shimowada, T., Mori, I. (Nagoya Univ.), Inhibitory and excitatory regulations of the simple neural circuit generate opposite navigation behaviors, 第 32 回日本神経科学大会, 名古屋, 2009.09.16-18
28. Tsukada, Y., Miyara, A., Shimowada, T., Ohnishi, N., Kuhara, A., Mori, I. (Nagoya Univ.), Quantitative behavioral analysis of freely moving *C. elegans*, 第 32 回日本神経科学大会, 名古屋, 2009.09.16-18
29. Miyara, A., Ohta, A., Okochi, Y., Tsukada, Y., Kuhara, A., Mori, I. (Nagoya Univ.), Studies on neuronal function of a novel and conserved protein TTX-8, 第 32 回日本神経科学大会, 名古屋, 2009.09.16-18
30. Nishio, N., Mohri, A., Kodama, E., Kimura, K., Kuhara, A., Mori, I. (Nagoya Univ.), Novel hydrolase AHO-3 is required for temperature-food associative learning behavior in *C. elegans*, 第 32 回日本神経科学大会, 名古屋, 2009.09.16-18
31. 木全翼, 久原篤, 谷澤欣則, 森郁恵 (名古屋大学大学院理学研究科), Regulation of subcellular localization of synapses by phosphatidylinositol signaling, 第 32 回日本神経科学大会, 名古屋, 2009.09.16-18
32. Okazaki, A., Kuhara, A., Tachikawa, S., Mori, I. (Nagoya Univ.), Gタンパクを介した温度走性の異常を抑圧する変異体の解析, 第 32 回日本神経科学大会, 名古屋, 2009.09.16-18
33. Emmei, T., Sasakura, H., Nishio, N., Akasaka, M., Kuhara, A., Mori, I. (Nagoya Univ.), 新規温度走性変異体 nj24 の行動遺伝学的解析, 第 32 回日本神経科学大会, 名古屋, 2009.09.16-18
34. Furuta, T., Kuhara, A., Mori, I. (Nagoya Univ.), Analysis of nPKC-mediated thermosensory signaling pathway in *C. elegans*, 第 32 回日本神経科学大会, 名古屋, 2009.09.16-18
35. Kobayashi, K., Sasakura, H., Suzuki, K., Mori, I. (Nagoya Univ.), Analysis of thermotactic mutants isolated by GFP marker that detects abnormality of thermosensory signaling in AFD thermosensory neuron of *C.*

- elegans, 第 32 回日本神経科学大会, 名古屋, 2009.09.16-18
36. Okazaki, A., Kuhara, A., Tachikawa, S., Mori, I. (Nagoya Univ.), Genetical analysis of mutation impairing G protein-coupled thermosensation in *C. elegans*, GCOE2009 国際シンポジウム(学生企画) “Explore, Exchange, Innovate”-A glance at the leading researches in Bioscience, 名古屋, 2009.11.17
  37. 杉拓磨, 西田征央, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), Regulation of a neural circuit for thermotactic behavior by non-neuronal cells, 第 32 回分子生物学会年会, 横浜, 2009.12.09-12
  38. 久原篤, 下和田智康, 大西憲幸, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), Neural code underlying inhibitory and excitatory neurotransmissions in single sensory neuron controlling temperature-sensing behavior of *C. elegans*, 第 32 回分子生物学会年会, 横浜, 2009.12.09-12
  39. 宮良晶子, 太田茜, 大河内善史, 塚田祐基, 久原篤, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 種を超えて保存された新規タンパク TTX-8/Macoilin の神経細胞における機能解析, 第 32 回分子生物学会年会, 横浜, 2009.12.09-12
  40. Furuta, T., Kuhara, A., Mori, I. (Nagoya Univ.), Screening and analysis of mutants defective in regulation of sensory signaling in thermotaxis of *C. elegans*, 第 32 回分子生物学会年会, 横浜, 2009.12.09-12
  41. 久原篤(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫をつかって脳の仕組みを探る, あいち科学技術教育推進協議会発表会「科学三昧inあいち 2009」, 岡崎, 2009.12.24
  42. 杉拓磨(名古屋大学大学院理学研究科), 非神経細胞は, 温度走性行動を規定する神経回路を制御する, 第 62 回日本細胞生物学会大会, 大阪, 2010.05.19-21
  43. 久原篤(名古屋大学大学院理学研究科), 神経回路機能の光操作から見えてきた神経伝達の新概念, 戦略的創造研究推進事業(CRESTタイプ)「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域平成22年度公開シンポジウム, 東京, 2010.06.01
  44. 塚田祐基(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫の行動と神経活動に対する動画像定量解析, 戦略的創造研究推進事業(CRESTタイプ)「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域平成22年度公開シンポジウム, 東京, 2010.06.01
  45. 笹倉寛之(名古屋大学大学院理学研究科), Regulation of thermosensation by SRTX-1(GPCR) in AFD thermosensory neurons, 戦略的創造研究推進事業(CRESTタイプ)「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域平成22年度公開シンポジウム, 東京, 2010.06.01
  46. 杉拓磨(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* の神経回路を制御する遺伝子変動ダイナミクスの同定, 戦略的創造研究推進事業(CRESTタイプ)「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域平成22年度公開シンポジウム, 東京, 2010.06.01
  47. 杉拓磨(名古屋大学大学院理学研究科), 非神経系細胞は, 温度走性行動を規定する神経回路を制御する, 第 10 回日本蛋白質科学会年会, 札幌, 2010.06.18
  48. 塚田祐基(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫温度走性中の神経活動計測 Monitoring neuronal activities during thermotaxis of *C. elegans*, 第33回神経科学大会, 神戸, 2010.09.02-04
  49. 杉拓磨, Gene expression dynamics that regulates *C. elegans* behavioral memory, 第33回神経科学大会, 神戸, 2010.09.02-04
  50. 古田智敬(名古屋大学大学院理学研究科), Analysis of thermosensory signaling pathway in AFD thermosensory neuron, The 4th East Asia *C. elegans* Meeting, 東京, 2010.07.11-14
  51. 平松尚也(名古屋大学大学院理学研究科), Genetic analysis of mutants

- abnormal in thermotactic behavioral plasticity in *C. elegans*, The 4th East Asia *C. elegans* Meeting, 東京, 2010.07.11-14
52. 中村文哉(名古屋大学大学院理学研究科), Elucidation of mechanism underlying information processing in the neural circuit for thermotaxis, The 4th East Asia *C. elegans* Meeting, 東京, 2010.07.11-14
53. Sasakura, H., Suzuki, K., Itoh, H., Mori, I. (Nagoya Univ.), Regulation of thermosensation by SRTX-1(GPCR) in AFD thermosensory neurons, the 18th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2011.06.22-26
54. Ochiai, Y., Tsukada, Y., Mori, I. (Nagoya Univ.), Quantitative analysis of exploratory patterns during thermotaxis of *C. elegans*, the 18th International *C. elegans* Meeting, the 18th International *C. elegans* Meeting, Los Angeles, CA, USA, 2011.06.22-26
55. 塚田祐基, 森郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 高速追尾システムを使った自由行動する線虫の神経突起蛍光イメージング(Fluorescence imaging of neuronal dendrites in moving *C. elegans* with high speed tracking system), 第34回日本神経科学大会, 横浜, 2011.09.14-17
56. 太田 智美, 中村 文哉, 大西 憲幸, 森 郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), Dissecting mechanism underlying neural signaling for thermotaxis in *Caenorhabditis elegans*, 第 34 回日本分子生物学会, 横浜, 2011.12.13-16
57. 塚本 聡美, 小林 暁吾, 森 郁恵(名古屋大学大学院理学研究科), 線虫 *C. elegans* における温度記憶の分子メカニズムの解明, 第 34 回日本分子生物学会, 横浜, 2011.12.13-16

#### (4)受賞・報道等

##### ① 受賞

井上學術賞(森郁恵)  
日本遺伝学会奨励賞(久原篤)

##### ② マスコミ(新聞・TV等)報道

###### 温度を感じる嗅覚ニューロンを発見

概要:線虫において、匂いを感じると考えられていたニューロンが温度も感知できることを発見し、ヒトの匂い、光、味の感知に重要な三量体Gタンパク質が、温度感知機構に関与していることを明らかにした(Kuhara, Okumura et. al., *Science*, 2008)

朝日新聞夕刊 2008年4月11日 光・におい伝える「Gたんぱく質」温度も感知解明

日本経済新聞 2008年4月11日 嗅覚細胞,温度も感知 名古屋大,線虫で確認

中日新聞 2008年4月11日 嗅覚細胞が温度も感知 名大院教授ら 線虫の実験で解明

日経産業新聞 2008年4月11日 嗅覚神経細胞,温度も感知 名古屋大線虫で解明

中部経済新聞 2008年4月11日 嗅覚細胞が温度も感知 米科学誌に論文を発表 線虫の実験で解明

日刊工業新聞 2008年4月11日 線虫の嗅覚,温度も感知 名大が神経細胞分子解明

毎日新聞夕刊 2008年4月11日 光・におい伝える「Gたんぱく質」温度も感知解明

(インターネット)

asahi.com 2008年4月13日 同じ仕組みで温度とにおい伝達 名大教授ら神経回路発見

#### 神経回路における情報のせめぎあい

概要:2種類のニューロンは、シナプス結合する1種類のニューロンに対し、同じ神経伝達物質を介して、それぞれ抑制性と興奮性の情報を伝えている(Ohnishi et al., *The EMBO Journal*, 2011)。

中日新聞朝刊 2011年4月7日 物質同じでも違う情報伝達 名大大学院教授ら世界初神経細胞実験で発見。

#### 神経回路におけるや相反する情報伝達を発見

概要:1種類のニューロンが、シナプス結合する1種類のニューロンに対し、興奮性と抑制性という相反する情報を伝えていることを見出した(Kuhara et. al., *Nature Communications*, 2011)。

中日新聞朝刊 2011年6月15日 「興奮」「抑制」2つの情報 神経細胞 同時に伝達 名大・森教授ら解明 精神疾患治療に道

朝日新聞朝刊 2011年6月16日 神経細胞 相反する情報伝達 名大院教授研究 脳疾患解明に期待

#### 内在性エストロゲンを介して温度記憶を制御する全身性温度受容システムの発見

概要:HSF が全身で温度を感知すると、女性ホルモンであるエストロゲン合成が促され、神経回路における情報の流れの変化を起こすことによって、記憶が変化することを見出した(Sugi et al., *Nature Neuroscience*, 2011)。

中日新聞朝刊 2011年6月27日 温度高低感知 女性ホルモン関与

#### ③その他

Close up「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域の研究事例から“いのち”をひもとく」

JST News Vol.5/No.5 2008/August

線虫から「心の萌芽」探る、「こころのページ」

2008年7月1日読売新聞夕刊

「この人・この研究」線虫行動から、脳神経系のはたらきを読みとる

あいみつく 18-20, 29(1) 2008

線虫の『感じる』を調べる

朝日新聞 2008年4月19日

線虫にスポット

日刊工業新聞 2008年4月24日

名古屋大学グローバルCOEプログラム「システム生命科学の展開:生命機能の設計」(拠点リーダー:近藤孝男教授)の一貫としての国際シンポジウムの開催にあたり、本研究代表者は、海外より線虫神経科学研究者4名を招聘し、招待講演および自身の講演による「Systems Biology International Symposium”Frontiers in Genes, Neural Circuits and Behavior”」というタイトルのシンポジウムを企画し、オーガナイザーを務めた。

中日新聞夕刊 コラム「紙つぶて」、東京新聞夕刊 コラム「紙つぶて(放射線)」毎週金曜日掲載(2011年1月～2011年6月)

東海ラジオ 平成23年度名古屋大学ラジオ放送公開講座 名古屋大学リレーセミナー「夢見た今と夢見る未来」第3回『「人間は、なぜ、そう感じ、考え、行動するのか」—1ミリの動物から脳の不思議に挑戦』(2011年7月17日放送)

(5)成果展開事例

①実用化に向けての展開

- オリンパス社と共同で開発した顕微鏡・照明システムが OEC (Olympus Engineering Customize) の具体例としてオリンパス社のカタログに掲載され、有効なカスタム事例として紹介されている。提案されているシステムは、広視野下で高いレベルでの明るさ・高解像を実現したマクロズーム顕微鏡 MVX10 をベースとした光刺激システム、並びにマイクロレベルでもそれを達成するためのステージ固定式正立顕微鏡 BX61W をベースとした特注システムについてである。

**OECが、研究者のご要望やお抱えの課題に最適なソリューションを提供して、価値ある研究成果の速成を支えます。**

**研究者たちのニーズが明日のイメージングを育てる**

オリンパスグループは新たな価値創造の拠点として、財団法人「産研倶楽部」とともに運営する「オリンパスハイオイメージングラボ」や、独立行政法人「理化学研究所」との共同による「理研BIS-オリンパス連携センター」を開設するなど、最先端の研究支援と技術開発を積極的に進めています。さらには、日本国内の研究者や医療関係者から要望や課題をヒアリングし、きめ細かく対応していくことで生命科学の発展に貢献しています。

**三位一体となって研究をバックアップ。定評あるOECのコアコンピタンス。**

**光学技術**

- 世界トップレベルの顕微鏡の光学エンジニアが専任
- 社員数の10%を占める光学エンジニアで技術開発を遂行
- お客様の研究会・ワークショップにおいてセミナー公演を実施
- 研究室に向けた最新アプリケーション・光学セミナーを実施

**OEC**

**精密技術**

- オートステージ等の搬送技術を開発
- レーザを用いた精密技術を駆使
- レーザ走査型顕微鏡開発者が専任
- 高度熟練者・独立技術者の陣容
- 高度な設備を備えた安全・快適な環境

**融合技術**

- オプトエレクトロニクス・メカトロニクスの融合技術を開発・開発に投入
- 関連企業との定期的な交換会で情報収集力を向上
- 業界トップレベル企業との協業 (40数社)

**Olympus Engineering Customize**

OECソリューション導入事例

**独立行政法人理化学研究所 発生再生科学総合研究センター センター長戦略プログラム**

システム/バイオリジー研究プロジェクト  
 上司 藤田 晋也 プロジェクトリーダー  
 機関 理研 研究員  
 所属 発生再生科学総合研究センター 発生生物学研究グループ

**提案システム**

発光顕微鏡スクリーニング装置 Luminescence Imaging System for Screening

**導入目的**

動的で複雑な生物システムの包括的な理解のために、一細胞レベルでの発光・蛍光観察できるタイムラプスイメージングを多細胞体でおこないたい。さらに細胞集団、組織を対象にして個々の細胞の発光量変動をイメージングするために、一細胞の発光長期測定がマイクロプロットを用いて多細胞体でおこなえることが目的だった。

**提案システム**

電動型正立顕微鏡をベースに拡張性の高いシステムを構築して下記4点を可能にする。かつ発光専用機LV200の持つ発光観察に最適な機能を維持した特注システムを提案。

- 多細胞（複数視野）でのマルチポイント観察
- 細胞・組織といったサンプルに対応した効率可変（電動）
- 複数のレポーターによる多チャンネル観察の他に多色発光観察
- 温度・湿度の変化によるコントラストを高精度で維持する機能



**名古屋大学大学院 理学研究科 生命理学専攻 生体情報論講座 分子神経生物グループ**

森 郁彦 教授  
 久原 寛 講師  
 (所属: 名古屋大学 理学工学部 生命科学 生体情報論 研究室)

**提案システム**

マクロズーム顕微鏡・正立顕微鏡ロッドプランイメージングシステム

**導入目的**

神経回路の新たな機能の解明には、特定のニューロンの活動を監視したうえで、経路的に活性化や不活性化させる技術が有用である。近年では特定経路の活性化により、開口する陽イオンチャネル (チャネルロッドプラン [ChR]) とG-ボンプ (ハロロドプシン [NHR]) を利用した神経活動の人工操作が可能となっている。

当研究室では、顕微鏡下で異なる温度環境で飼育した緑虫 *C. elegans* を温度勾配装置の中に入れ、活動する様子を遠望イメージングしながら、神経細胞の活性化/不活性化を自由にコントロールするために、光刺激 (ChR2/NHR 励起) をおこなう。さらに細胞-遺伝子といったマイクロレベルでの温度変化に対する神経回路の活動をイメージング発光測定できることが目的であった。

**提案システム**

高解像を提供するために、広視野下で高いレベルでの明るさ・高解像を実現したマクロズーム顕微鏡MVX10をベースとして、並進制御可能なシステムを構築。さらにマイクロレベルでも達成できるように、ステージ固定式正立顕微鏡BX61Wをベースにした特注システムを提案した。

- 顕微鏡本体を改造し、解像力とChR2、NHR 励起を達成する照射パターを確保 (MVX10)
- 発光イメージングと光刺激以外にも細胞をトラッキングする為の顕微鏡光学系 (近赤外) の実現 (MVX10)
- 緑虫の特性 (厚み・凹凸) においてピンポイント合わせができる360°電動のユニバーサルステージ (BX61W)
- Zフォーカス入り・補正ソフトウェアにより、温度変化実験で発生するコントラストを複数のポイントで補正 (BX61W)
- ガルバノミラーシャッターシステムにより、高度でChR2、NHR 励起を独立して高精度に制御することが可能 (MVX10/BX61W)



- **スピードを最優先して対応します**  
 研究者の方々が世界に先駆けて一日でも早く成果を出していただけるよう、ご要望や課題解決には常に的確な判断と選択で迅速に対応いたします。
- **徹底したサポート体制を実施します**  
 機器やシステムの納入後も徹底した技術サポートを随時提供し、成果が生まれるまで安心して研究に集中していただける環境づくりをおこないます。

- 31 -

## § 6 研究期間中の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
2009.11.18-19	GCOE 国際シンポジウム	名古屋大学	100 人	本研究代表者は、海外より線虫神経科学研究者4名を招聘し、招待講演および自身の講演による「Systems Biology International Symposium ”Frontiers in Genes, Neural Circuits and Behavior”」というタイトルの GCOE シンポジウムを企画し、オーガナイザーを務めた。

## § 7 結び

### 研究の目標等から見た達成度

当初の研究構想にしたがって研究計画を立案し、概ね順調に研究が進み、目標であった新概念の創出を実現させたと思われる。H18 年度～H19 年度にかけては、企業と共同で顕微鏡システムや線虫の自動追尾システムの開発などを中心に行っていたが、それらの装置や技術を用いて、H20 年度から後半では実験を行い、画期的成果が得られた。それらは、主に最終年度である H23 年度に論文として発表できた。また、これらの成果は、新聞やメディアに取り上げられて、広く一般社会に紹介された。

### 得られた成果の意義等の自己評価

神経回路での情報の流れについて、新概念を提言できたことは評価に値すると考えられる。2種類の温度受容ニューロンのうち一方は、VGLUT 依存的グルタミン酸の放出により、2種類の温度受容ニューロンとシナプス結合する単一の介在ニューロンを興奮させ、もう1つの温度受容ニューロンは、同じく VGLUT 依存的グルタミン酸放出により、シナプス結合する同じ単一の介在ニューロンを抑制することも明らかになった。また、単一の温度受容ニューロンが、それとシナプス結合している単一の介在ニューロンに対して、興奮させたり、抑制したりできることがわかったことも画期的成果である。さらに、これらの結果は、光遺伝学(オプトジェネティクス)を用いて明らかになったことも、本研究の意義である。

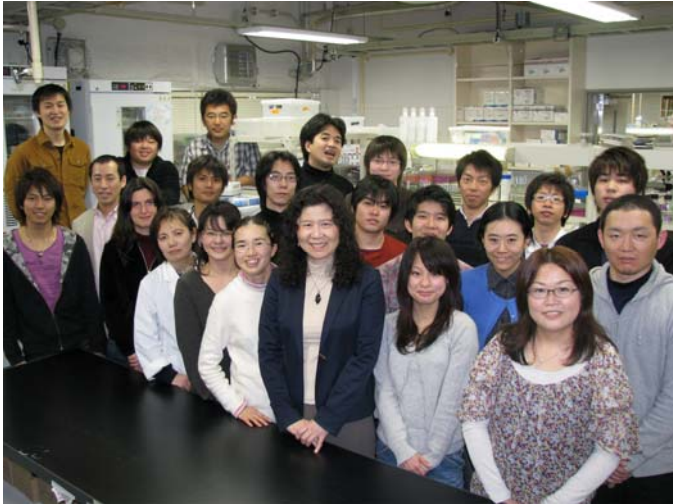
### 今後の研究の展開

今後は、温度記憶をしている温度受容ニューロンにおける記憶成立機構の解明、より解像度の高い神経活動のイメージング法による神経回路動態の解析、神経回路動態の精度の高い数理モデリングなどを行うことにより、線虫神経回路の系を生かした脳神経系の包括的理解を深めることができると思われる。

### プロジェクト運営

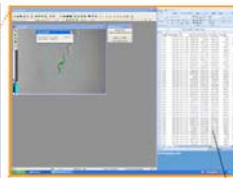
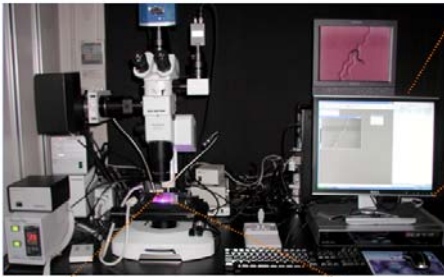
森チームの研究参加者間では、互いに相補する協力体制のもとに、研究が遂行できた。若手の研究者が思う存分に研究する環境が与えられたため、優れた業績につながったことは、若手研究者育成の観点からも、CREST 研究に採択された恩恵は大きいと感じている。



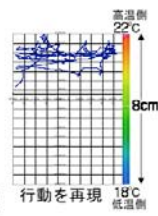


2010 年度  
森研究室メンバー集合写真

線虫の自動追尾(トラッキング)システムと温度勾配装置



時間・位置  
情報を残す



行動を再現



温度勾配装置 (拡大図)

高速トラッキングシステム

