

多細胞システムにおける細胞間相互作用とそのダイナミクス  
2019年度採択研究者

2021年度 年次報告書
-----------------

豊島 有

東京大学 大学院理学系研究科  
准教授

線虫全神経の1細胞遺伝子発現解析と活動計測

## § 1. 研究成果の概要

本研究は、「1. 行動中の線虫の全神経活動の観察系の確立」「2. 1 細胞遺伝子発現解析」「3. 行動中の線虫の全神経活動の回路レベルでの解析」を主要な研究項目としている。2021 年度は前年度に引き続き主に項目1と2について取り組んだ。

項目1については、前年度までにスピニングディスク型共焦点顕微鏡に電動ステージを追加し、自由行動中の線虫の追尾と全脳イメージングの両立を達成した。しかし追尾に用いる明視野画像は SN 比が低く、追尾が途中で外れるなどして失敗するケースが多かった。一般に蛍光像は明視野像より SN 比が高く、追尾性能の向上が期待できる。そこで本年度は、独自に設計した正立光学系を既存の共焦点倒立顕微鏡に追加して正倒立顕微鏡とし、倒立側の共焦点顕微鏡によって励起された蛍光像を正立側でも撮影して追尾に用いることで、追尾の成功率を向上させた。また線虫の姿勢を修正する前処理を既存のパイプラインに追加することで、動画内の神経細胞を適切に追跡できることを確認した。これらの手法を組み合わせ、自由行動中の線虫の頭部神経細胞の神経活動を汎神経的に抽出することに成功した。

項目2については、前年度に引き続き、細胞系譜解析などに適したゲノム編集技術である Target-ACEmax の線虫への導入をすすめた。塩基編集の効率を調べるため、塩基編集レポーターを作成し、線虫に発現させて機能の確認をすすめた。また 3 次元位置情報を保持しながら遺伝子発現情報を取得するため、Fluorescent in-situ Hybridization (FiSH)の実験系を立ち上げ、線虫に適用した。

項目3については、前年度までに、微小流路内に保定された線虫の全脳の神経活動データから 10 個体に共通する神経活動モチーフを抽出することに成功したが、この際に用いた独立成分分析は欠損値を許容できないため、約半数の神経細胞のデータを除外する必要があった。本年度は、独立成分分析によって得られた行列を拡張することで、欠損値を推定・補完する手法を開発した。全 24 個体の欠損値を含むデータに対して本手法を適用し、欠損値を補いながら神経活動モチーフを得ることに成功した。