

課題G「脳科学研究を支える体系的・集約的な情報基盤の構築」

情動の制御機構を解明するための神経情報基盤の構築

1) 研究課題名

「ショウジョウバエ成虫脳のモノアミン系解析」

2) 所属機関名 / 氏名

東京大学 分子細胞生物学研究所 脳神経回路研究分野 伊藤 啓

3) 目的

ショウジョウバエ成虫は、飛ぶ、歩く、探索する、闘う、求愛するといった複雑な行動パターンを示し、可能な行動実験のレパートリーはマウスに匹敵する。これらの複雑な行動はわずかに片半球2万個程度の脳細胞で制御されているため、複雑膨大な哺乳類の脳と異なり、感覚情報入力から行動制御出力までの全体を見渡した体系的な解析が可能である。ショウジョウバエ成虫脳では、モノアミン神経群は樹状突起を脳の下部に持ち、脳の上部の広範な部位に投射するという、哺乳類脳と類似した構造を持っている。昆虫でも情動の制御にモノアミン神経経路が重要な役割を果たすことは確実視されているが、(1) 罰や報酬などの情報はどのようにして異なるモノアミン系の活動に結びつくのか？ (2) 異なるモノアミン系が活性化するとき、脳の中ではどのように異なった反応が起きているのか？という2つの重要な問題は、まだほとんど解析されていない。そこで前者を知るために、モノアミン神経がどのような神経から情報を受けるのかの回路ネットワークを明らかにし、それらの神経を人為的に遮断したり活性化したりすると脳機能にどのような変化が起こるかを解析する。また後者を知るために、異なるモノアミン系が活性化した脳で、生化学的にどのような変化が起きているかを解析する。これによって神経回路と神経細胞内という2つのレベルにまたがる多階層の解析を行う。

4) 概要

・モノアミン神経経路の網羅的体系的解析（コネクトミクス）：

これまでに構築したさまざまな遺伝子発現誘導ツールを組み合わせ、ドーパミン、オクトパミン、セロトニンという昆虫の主要な3種のモノアミン神経群それぞれの全部もしくは一部で特異的にレポーター蛋白を発現させて、モノアミン情報経路を構築する神経回路の全構造を単一細胞レベルで解明する。特に、プレシナプス局在蛋白やポストシナプス局在蛋白にタグをつけたレポーターの発現誘導によって、モノアミン神経の情報入力部位と出力部位を体系的に解析する。同時に、モノアミン神経の樹状突起が広がる領域に出力シナプスを持つ神経を同定し、二重ラベルによって両者にシナプス連絡があるかを解析する。これによって、モノアミン神経がどのような神経から情報を受け取るかのネットワークを明らかにする。

さらに、これらモノアミン神経群およびそれらに情報を供給する神経群でカルシウム濃度依存性蛍光蛋白を発現させ、罰や報酬となる刺激や特定の味や匂いの刺激によって、外界からの刺激に対してこれらの神経の神経にどのような活動変化が見られるかをイメージングによって解析する。また、コンピューティンググループと協力して、顕微鏡画像の高次処理による神経回路構造の抽出や、解剖学的、生理学的知見に基づくモノアミン神経ネットワークの構造と動作の数理モデル化を行う。

・特異的なモノアミン神経経路の賦活化による行動変化の解析

コネクトミクス解析の過程でスクリーニングされた特定のモノアミン経路の全部または一部の神経をラベルする発現誘導システムを用いて、温度依存性 TrpA1 チャンネル等を発現させ、温度変化によって当該神経の活動を賦活化する。この方法では、動物を拘束することなく自由行動 (free running) 状態のまま、特定の神経の活動をリモートコントロールできる。このようにして特異的なモノアミン神経を賦活化したときに、求愛、闘争、逃避、睡眠など成虫が行うさまざまな情動行動のレベルがどのように変化するかを解析する。

また、特定神経の発現誘導に用いるシステムは幼虫脳でもスクリーニングを行い、榎本研究室 (大阪バイオ研) における幼虫脳のさまざまな神経での特異的発現誘導に利用する。

・特異的なモノアミン神経経路の活性化による細胞内活動変化の解析

温度依存性 TrpA1 チャンネル等によってドーパミン、オクトパミン、セロトニン系それぞれを特異的に

賦活化した状態で頭部組織から蛋白を精製し、プロテオミクスグループと協力して各種蛋白のリン酸化状態を無操作対照群の脳のデータと比較することによって、異なるモノアミン系が活性化したときにリン酸化される蛋白の違いを解析する。こうして同定された候補蛋白について、ゲノムデータに基づく発現誘導システムの探索等によって、それらの蛋白が脳のどの神経で発現しているかを解析し、解剖学的方法で同定したモノアミン神経回路とのネットワーク的關係を調べる。

5) 実施体制

