

令和元年5月8日現在

機関番号：27103

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07443

研究課題名(和文) 非眼性光感知に基づく負の光走性行動の研究

研究課題名(英文) Phototaxis behavior based on non-ocular photosensing

研究代表者

松尾 亮太 (Matsuo, Ryota)

福岡女子大学・国際文理学部・准教授

研究者番号：40334338

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者は、ナメクジが示す負の光走性(光から逃げる性質)の神経機構を調べている過程で、偶然にも、触角先端部にある眼を左右とも切除されたナメクジでも光から逃げる行動を示すことを見出した。詳細な解析の結果、ナメクジは頭部で光を感知する能力があることが電気生理学的に見出され、また脳に複数種類のオプシン(視物質タンパク)を発現していることも分かった。本研究により、ナメクジは両眼を失った場合でも、脳を光センサーとして用いることで、明るい場所を避ける行動が可能であることが強く示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ナメクジは負の光走性、つまり明るい場所を避け、暗い場所へと移動する性質を持つ。本研究では、ナメクジが両眼を失っても負の光走性を示すことを示し、その際に用いられている光センサーが脳に存在することを強く示唆するデータを得た。本研究は、明るい場所を避けることがナメクジにとって如何に重要であるかを示したと同時に、動物が持つ光感知システムの多様性の一端を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：During the course of the investigation of neural mechanism of negative phototaxis behavior, we accidentally found that the slugs can evade light places even if their eyes were bilaterally removed. This unexpected finding prompted us to investigate how the slugs detect light in the absence of eyes. Our study revealed that the isolated brain of the slugs responds to light at the electrophysiological level, and that the pleural kinds of opsin mRNAs are expressed in the brain. Our present study suggests that the slugs can detect and evade light by using their brain as a photosensor if they are blinded by damage to the tentacles.

研究分野：分子神経生物学

キーワード：非眼性光感知 オプシン 光走性 細胞外記録

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究代表者は、ナメクジが示す負の光走性(光から逃げる性質)の神経機構を調べている過程で、偶然にも、触角先端部にある眼を左右とも切除されたナメクジでも光から逃げる行動を示すことを見出した。つまり、ナメクジには眼以外の光受容システムが存在し、そこからの情報に基づいて光を避けることができるかと推察された。本研究では、この仮説を実験的に検証し、さらにそのようなオプシン(視物質)分子が関与しているのかを調べることを目的とした。

2. 研究の目的

本研究では、

- 1) 脳で光を感知することが光を避ける行動へと結びついているのか
 - 2) 果たして脳でどのような波長帯の光を感知しているのか
 - 3) 脳で機能している視物質分子は何か
- という3つのテーマを中心に据え、研究を進めることにした。

3. 研究の方法

1) については、既に代表者らは両眼を切除されたナメクジが、特に頭部を隠すことで光から逃れているつもりになっているらしいことを見出していた。そして、400 nm ~ 480 nm の短波長の光について、その傾向が認められていた。そこで、両眼を切除されたナメクジが、暗所において短波長(440 nm)あるいは長波長(700 nm)の光を頭部または尾部に照射された際に、忌避的な行動を示すかどうかを、赤外線ビデオ撮影装置の下でモニターすることで解析した。

2) では、摘出した脳の連結部断端からの細胞外神経活動記録を行うことにより、どの波長の光を照射した場合に最も大きな神経応答が記録されるかを調べることで、感度の高い波長域を調べた。

3) においては、ナメクジ中枢神経系におけるトランスクリプトーム解析から見出された複数種のオプシン分子について、その発現を調べた。さらに、各オプシンが示す応答の波長特性についても解析を行った。

4. 研究成果

1) まず、頭部に光を照射した際は、440 nm の光の場合には、等光量子束密度の 700 nm の光の場合に比べて、より早く光の照射スポットから逃避することが明らかになった(図1A)。一方、ナメクジの尾部にスポット光を照射した場合には、波長間で有意な差は認められなかった(図1B)。これらの結果は、眼を除去されたナメクジが、頭部に存在する光センサーを用いて忌避行動につなげていることを示唆している。

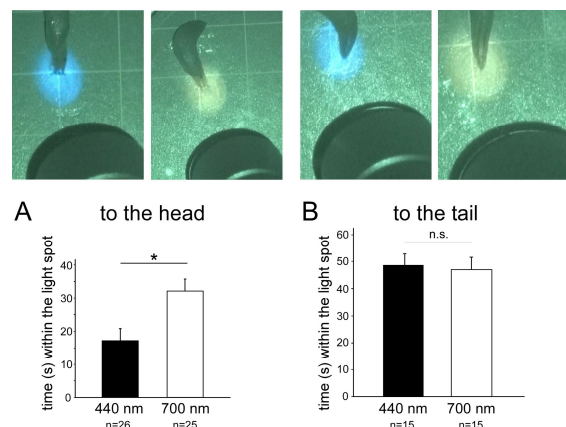


図1 頭部または尾部にスポット光を照射した場合のスポット内滞在時間

一方、頭部には脳のみでなく、生殖器(ペニス)も存在しており、ここで光を感知している

可能性も否定できない。実際、代表者らはナメクジのペニスに xenopsin というオプシン分子の mRNA が発現していることを、RT-PCR 法によって見出した。そこで、両眼に加えてペニスも切除したナメクジを用意し、明所と暗所を自由に行き来できるボックス内に置いて、それらの行動を確認した。その結果、ペニスが無いナメクジでも、暗い部屋へと逃げることができていることが明らかになった(図2)。この結果から、逃避行動に必要な頭部の光センサーは、少なくともペニスには存在しないことが明らかになった。

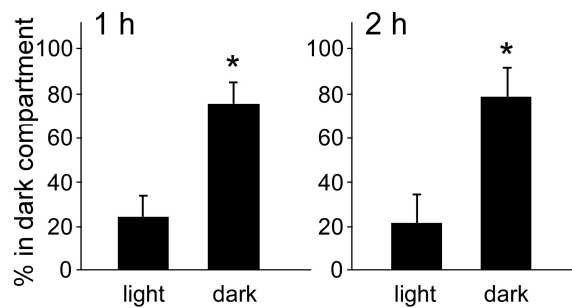


図2 両眼とペニスを切除されたナメクジでも暗い部屋へ逃げ込むことができた。

2) 上記の結果から、脳に光センサーが存在する可能性が考えられたため、単離した脳において、食道下神経節と大脳神経節をつなぐ連結部(cerebro-pleuro connective)の食道下神経節側から細胞外記録を行い、光に反応する成分があるかどうかを調べた。その結果、光の強度依存的にスパイク頻度が増加する反応成分が記録できることが分かった。波長および光量子束密度を様々に変化させて多数の脳から記録を行った結果、食道下神経節が示す光反応は 400 nm 前後を中心とした波長域に最も高い感度を示すことが分かった。

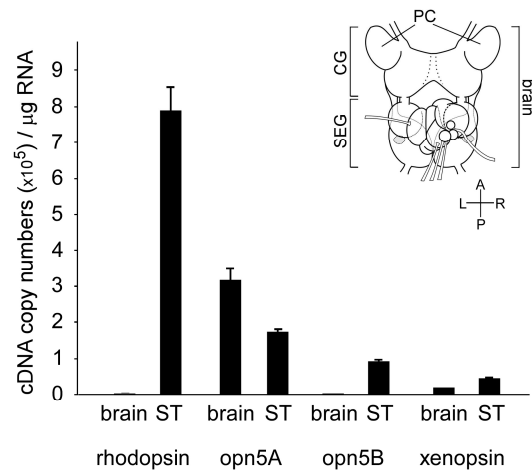
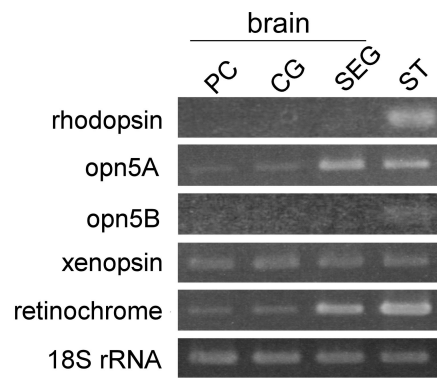


図3 脳および触角におけるオプシン様分子の発現

3) トランスクリプトーム解析の結果、レチナル異性化酵素であるレチノクロム他、G_q 共役型 rhodopsin、Opn5A、Opn5B、xenopsin がオプシン様分子として見出された。ここまでの結果については現在、専門誌に投稿中である。定量 RT-PCR の結果、これらのうち、Opn5A と xenopsin の mRNA が脳において高い発現を示すことが明らかになった(図3)。

なお現在、上記4種のうち、Opn5Bを除く3種のオプシン様分子C末端部分に対する特異的抗体を作成し、脳内における分布を解析中である。一方、これら抗体を使って、ナメクジの眼のラドメア型視細胞のラドメア部分に rhodopsin、Opn5A、xenopsin という3種類のオプシントタンパクが共局在していることも見出した。この結果についても現在、別途専門誌に投稿中である。

〔雑誌論文〕(計 5 件)

*印は corresponding author

1. Matsuo Y, Yamanaka A, and *Matsuo R. (2018). RFamidergic neurons in the olfactory centers of the terrestrial slug *Limax*. *Zoological Letters* **4**, 22. 【査読有】 10.1186/s40851-018-0108-9
2. *Matsuo R, Takatori Y, Hamada S, Koyanagi M, and Matsuo Y. (2017). Expression and light-dependent translocation of β -arrestin in the visual system of the terrestrial slug *Limax valentianus*. *J Exp Biol* **220**, 3301-3314. 【査読有】 10.1242/jeb.162701
3. Fujisaki Y and *Matsuo R. (2017). Context-dependent passive avoidance learning in the terrestrial slug *Limax*. *Zool Sci* **34**, 532-537. 【査読有】 10.2108/zs170071
4. *Matsuo R, Tanaka M, Fukata R, Kobayashi S, Aonuma H, and Matsuo Y. (2016). Octopaminergic system in the central nervous system of the terrestrial slug *Limax*. *J Comp Neurol* **524**, 3849-3864. 【査読有】 10.1002/cne.24039
5. Suenaga Y, and *Matsuo R. (2016). Length of memory retention period depends on the extent of protein synthesis in the terrestrial slug *Limax*. *Neurosci Lett* **630**, 222-227. 【査読有】 10.1016/j.neulet.2016.08.004

〔学会発表〕(計 8 件)

1. Matsuo R, Koyanagi M, Sugihara T, Terakita A, Nishiyama H. Opsins involved in the visual function in the terrestrial slug *Limax*. 2018 年 11 月 24 日、日本比較生理生化学会、神戸市。
2. Nishiyama H, Nagata A, Matsuo R. Light sensing and avoidance by non-ocular photosensing system in *Limax*. 2018 年 11 月 23 日、日本比較生理生化学会、神戸市。
3. 山中亜麻美、松尾優子、松尾亮太. ナメクジ高次嗅覚中枢における RFamide ペプチド類の発現パターン解析. 2018 年 5 月 27 日、三学会合同宮崎大会、宮崎市。
4. 松尾優子、山中亜麻美、松尾亮太. ナメクジ高次嗅覚中枢に情報を伝達するペプチド性神経伝達物質. 2017 年 9 月 21 日、日本動物学会、富山市。
5. 松尾亮太、鷹取由佳、濱田俊、小柳光正、松尾優子. ナメクジ網膜における アレスチンの発現と光依存的な細胞内局在変化. 2017 年 5 月 27 日、三学会合同大会、大分市。
6. Fujisaki Y and Matsuo R. Context-dependent passive avoidance learning in the terrestrial slug *Limax*. 2017 年 11 月 25 日、比較生理生化学会、福岡市。
7. Matsuo R, Nagata A and Matsuo Y. Physiological and molecular properties of the eye of the terrestrial slug *Limax*. 2016 年 9 月 2 日、日本比較生理生化学会、東京。
8. 松尾亮太、末永祐子. タンパク合成阻害により健忘が出現する時期は、阻害剤投与のタイミングに依存して変化する. 2016 年 5 月 29 日、九州地区三学会合同大会、鹿児島。

〔図書〕(計 1 件)

Matsuo R, 他 33 名. "The computation and robustness of the mini-cognitive centers of terrestrial mollusks - an exquisite outcome of brain evolution." in *Brain Evolution by Design*, Chapter 9, Shigeno S, Murakami Y, Nomura T ed., Springer (2017).

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.fwu.ac.jp/~matsuor/>

<http://www.fwu.ac.jp/teachersdatabase/detail/?masterid=61&gakkaid=202&gakubuid=20>

<https://researchmap.jp/matsuor/>

アウトリーチ活動

ひらめき ときめきサイエンス実施（小学5,6年生20名対象）

「ナメクジは賢い！～ナメクジの学習行動と脳のしくみ～」2018年7月27日（福岡女子大学）