

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H01378

研究課題名(和文)新しいイメージング技術による神経伝達物質受容体の多様性の理解

研究課題名(英文) Understanding the diversity of neurotransmitter receptor expression in the fly brain through endogenous gene tagging

研究代表者

谷本 拓 (Tanimoto, Hiromu)

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：70714955

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,800,000円

研究成果の概要(和文)：ひとつの神経伝達物質には機能の異なる複数の受容体が存在する。神経回路の機能を理解するためには、個々の神経の接続部位において、神経伝達物質受容体の発現と局在を明らかにすることが不可欠である。本研究ではショウジョウバエをモデルに、75種類に及ぶ神経伝達物質の受容体遺伝子について発現分布を網羅的に可視化し、ショウジョウバエ脳の「受容体発現地図」を構築した。また、記憶やナビゲーションなどの「高次機能」を司る高次中枢では、他の脳領域と比べて異なる受容体発現特性を持つことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で確立したトランスジェニックショウジョウバエ系統リソースは、神経情報伝達システムの解析に留まらず、様々な用途で広く活用することができる。ショウジョウバエの神経伝達物質受容体の構造と機能は、ヒトを含む他の動物種でも保存されており、生理機能の制御を種間比較するうえでの良いレファレンスとなる。本成果は、薬剤の標的細胞への選択的な輸送メカニズムを明らかにする糸口を提供するものであり、神経細胞間の接続における情報処理の理解が進むことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Neurotransmitters often have multiple receptors that induce distinct responses in receiving cells. Expression and localization of neurotransmitter receptors in individual neurons are therefore critical for understanding the operation of neural circuits. Here we describe a comprehensive library of reporter strains in which a convertible T2A-GAL4 cassette is inserted into endogenous neurotransmitter receptor genes of *Drosophila*. Using this library, we profile the expression of 75 neurotransmitter receptors in the brain. Cluster analysis reveals neurochemical segmentation of the brain, distinguishing higher brain centers from the rest.

研究分野：神経行動学

キーワード：遺伝学

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

脳は無数の細胞が適切な回路を形成することで機能する。近年、神経同士の接続を網羅的に明らかにしていくコネクトーム解析が世界的に進められており、さまざまなモデル動物の脳の設計図が分かりつつある。しかし、神経ネットワークの構造だけでなく、その働きを理解するためには、神経における情報伝達の仕組みを解明することが不可欠である。

神経細胞の接続部位で働く神経伝達物質は数十種類にも及んでおり、それぞれが独自の情報を伝達する。また、同じ神経伝達物質であっても、受容体によってその働きが大きく異なる。すなわち、特定の神経伝達物質が細胞に対してどのように作用するかは、その受容体の種類に依存すると言える。向精神薬を含む薬剤の44%が受容体を標的にしていることから、受容体遺伝子ファミリーが幅広い生体機能において重要であることが分かる。その一方で、これまでに多数の神経伝達物質受容体を対象とし、その脳発現分布を網羅的に解析した先行研究例はほとんど報告されていなかった。

2. 研究の目的

以上のように、個々の神経接続部位における神経伝達物質とその受容体を特定することは、神経ネットワーク動態の解明に直結する。そこで本研究ではショウジョウバエをモデルに、神経伝達物質の受容体発現を高精度かつ網羅的に明らかにし、脳の設計図の一端を明らかにすることを目的とした。

具体的には、脳全体の細胞内局在から受容体活性までに至る全てのレベルで、複数の受容体を可視化する。ここから得られた体系的な脳画像データを基に、多次元数理解析を行うことで、神経回路の機能における多様な受容体の意義と生体内での作用ロジックを理解することを目指した。

3. 研究の方法

(1) ショウジョウバエの受容体（遺伝子とタンパク）の遺伝学的標識

CRISPR/Cas9法を用いて、受容体遺伝子の特定部位に遺伝子挿入を行う。これまで我々が開発した「交換可能ベクター」を挿入することで、GAL4やGFPなどの任意の遺伝子を内在性受容体遺伝子の一部として発現させるため、内在性遺伝子の発現を最も忠実に再現しつつ、同時に他の用途にも活用できる汎用性の高いリソースを確立する。

(2) Tangoシステムによる内在性受容体活性の可視化

上記の受容体標識システムを用いて発現パターンを解析することにより、各受容体の作用しうる範囲を推定することができるが、本研究ではさらにリガンドにより活性化された受容体細胞を直接的に可視化する。これには、リガンド・受容体の相互作用をレポーター遺伝子の発現に変換するTangoシステムを用いる。

(3) 受容体分布と活性化の単一細胞レベルでの比較

脳における各受容体の①遺伝子発現、②タンパク局在、③活性化を体系的に可視化する。画像重ね合わせ技術により、全ての3次元顕微鏡画像を同一座標系にカタログ化することで、3次元画像データベースを構築する。この統合データを主成分分析やクラスター解析し、脳領域ごとの「受容体コード」や「受容体活性化ホットスポット」などの特徴を数理的に理解する。

4. 研究成果

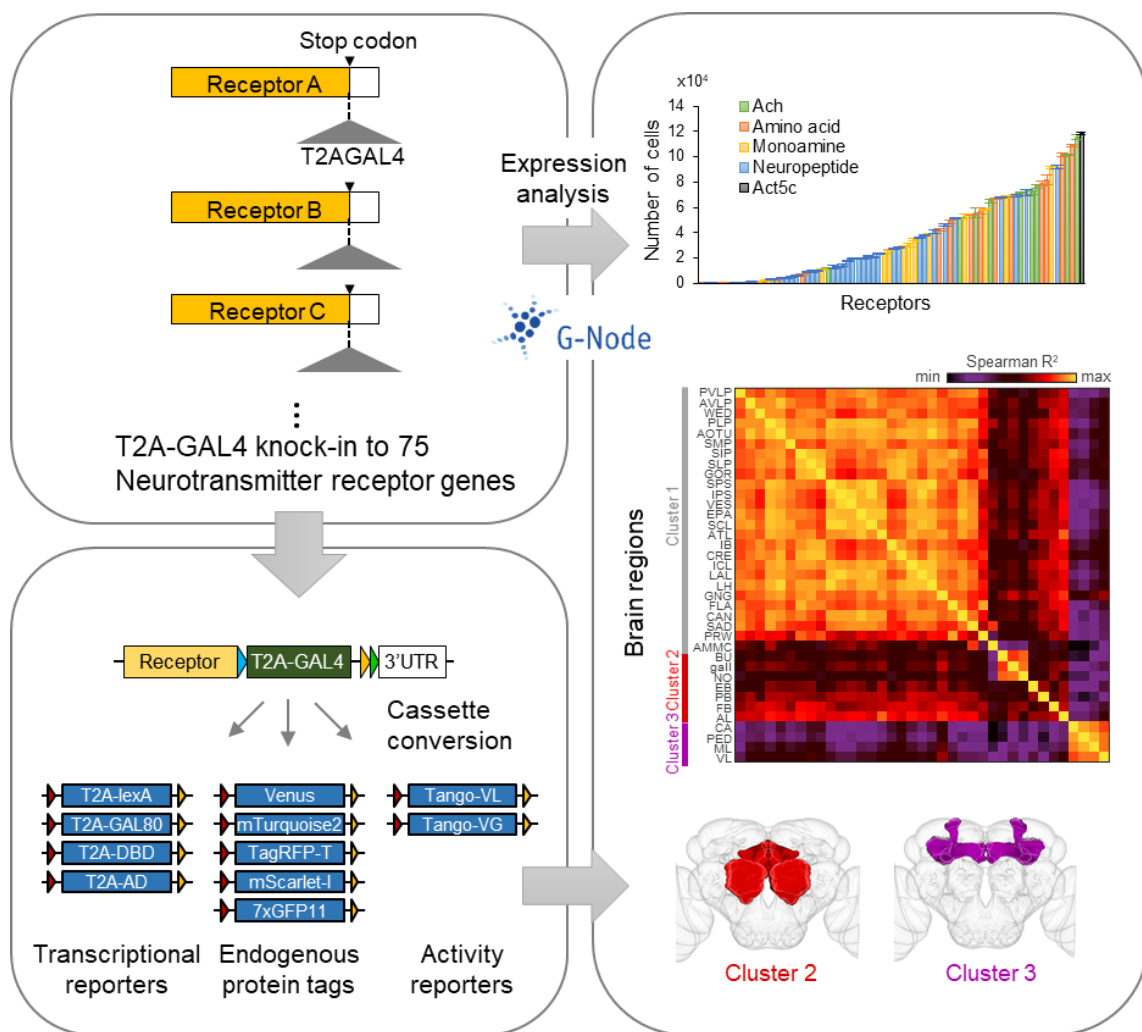
国立遺伝学研究所の近藤周博士らと共同で、ゲノムにコードされる受容体遺伝子の2/3（75遺伝子）についてGAL4レポーターを導入したトランスジェニックショウジョウバエ系統リソースを作出した。これにより、受容体遺伝子の転写活性を単一細胞レベルで調べることが可能となった。

また、この新しいショウジョウバエシステムを用いて、全脳に渡る受容体遺伝子の発現分布を高解像度で可視化することに成功した。この網羅的解析により、75の受容体の遺伝子の発現には大きな「多様性」があることを見出した。例えば、神経伝達物質の一種であるグルタミン酸は、哺乳類から節足動物まで様々な動物種の脳内に広く存在することが知られている。本研究により、グルタミン酸を受容するために必要な受容体遺伝子は複数存在し、多くの細胞で発現するものから脳ではほぼ観察できない遺伝子まで多岐に渡ることが明らかとなった。

さらに、これら75受容体遺伝子の発現パターンを解析し、脳内の構造的特徴を分析した。取得したデジタル顕微鏡画像の全てを「標準脳」に重ね合わせ、コンピューター上で画像処理を施すことで、異なる脳標本間の遺伝子発現パターンを正確に比較することができる。約300個の脳の画像データから構築したショウジョウバエ脳の「受容体発現地図」を基に数理解析を行い、脳領域ごとの遺伝子発現特性を明らかにした。ショウジョウバエの脳は37の領域に分類されることが知られているが、今回の解析により37の脳領域が3つのグループに分類できることを見出した。このうち2つのグループに属する脳領域は、記憶やナビゲーションなどの「高次

機能」を司る中枢であり、他の脳領野と神経伝達物質受容体遺伝子の発現特性が大きく異なることが明らかとなった。この結果から、高次中枢では特別な情報処理が行われていることが示唆される。

本研究で焦点を当てたショウジョウバエの神経伝達物質受容体の構造と機能は、ヒトを含む他の動物種間でも保存されていることが知られている。ここで示された受容体の多様性は、薬剤の標的細胞への選択的な輸送メカニズムを明らかにする糸口を提供するものである。また、副作用の低下や害虫防除・行動制御などの戦略を立てるうえでも、標的受容体の発現パターン解析の重要性は益々高まっている。今後は本研究で得られた受容体遺伝子の発現情報と、コネクトーム解析による細胞同士の接続情報を統合することにより、神経細胞間の接続における情報処理メカニズムの包括的な理解が進むことが期待される。



Top right: Comprehensive T2A-GAL4 knockin resources for neurotransmitter receptors in flies.

Bottom right: T2A-GAL4 can be converted into other reporters by RMCE.

Left: Quantitative analyses of receptor expression reveal segmentation of the fly brain.

<文献>

① Kondo S, Takahashi T, Yamagata N, Imanishi Y, Katow H, Hiramatsu S, Lynn K, Abe A, Kumaraswamy A, Tanimoto H. Neurochemical organization of the *Drosophila* brain visualized by endogenously tagged neurotransmitter receptors. *Cell Rep.* 2020; 30(1) :284-297.

② Katow H, Takahashi T, Saito K, Tanimoto H, Kondo S. Tango knock-ins visualize endogenous activity of G protein-coupled receptors in *Drosophila*. *J Neurogenet.* 2019; 33(2) :44-51.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Park Jeonghyuk, Kondo Shu, Tanimoto Hiromu, Kohsaka Hiroshi, Nose Akinao	4. 巻 8
2. 論文標題 Data-driven analysis of motor activity implicates 5-HT2A neurons in backward locomotion of larval <i>Drosophila</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10307
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-28680-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Okuno Takuto, Hashimoto Koichi, Tanimoto Hiromu	4. 巻 2019
2. 論文標題 Quantification of Aggregation and Associated Brain Areas in <i>Drosophila Melanogaster</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 IEEE Int Conf on Pervasive Comp & Commun Workshops (PerCom 2019)	6. 最初と最後の頁 759-764
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1109/PERCOMM.2019.8730594	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Onodera Yuya, Ichikawa Rino, Terao Kanta, Tanimoto Hiromu, Yamagata Nobuhiro	4. 巻 33
2. 論文標題 Courtship behavior induced by appetitive olfactory memory	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neurogenetics	6. 最初と最後の頁 143-151
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/01677063.2019.1593978	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Katow Hidetaka, Takahashi Takahiro, Saito Kuniaki, Tanimoto Hiromu, Kondo Shu	4. 巻 33
2. 論文標題 Tango knock-ins visualize endogenous activity of G protein-coupled receptors in <i>Drosophila</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neurogenetics	6. 最初と最後の頁 44-51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/01677063.2019.1611806	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ichinose T, Tanimoto H, Yamagata N.	4. 巻 11
2. 論文標題 Behavioral modulation by spontaneous activity of dopamine neurons.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Frontiers Syst Neurosci.	6. 最初と最後の頁 88
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnsys.2017.00088	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Thoma V, Kobayashi K, Tanimoto H.	4. 巻 4(6)
2. 論文標題 The role of the gustatory system in the coordination of feeding.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 eNeuro	6. 最初と最後の頁 0324-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/ENEURO.0324-17.2017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kondo Shu, Takahashi Takahiro, Yamagata Nobuhiro, Imanishi Yasuhito, Katow Hidetaka, Hiramatsu Shun, Lynn Katrina, Abe Ayako, Kumaraswamy Ajayrama, Tanimoto Hiromu	4. 巻 30
2. 論文標題 Neurochemical Organization of the Drosophila Brain Visualized by Endogenously Tagged Neurotransmitter Receptors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 284 ~ 297 .e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.12.018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sun Huan, Nishioka Tomoki, Hiramatsu Shun, Kondo Shu, Amano Mutsuki, Kaibuchi Kozo, Ichinose Toshiharu, Tanimoto Hiromu	4. 巻 40
2. 論文標題 Dopamine Receptor Dop1R2 Stabilizes Appetitive Olfactory Memory through the Raf/MAPK Pathway in Drosophila	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2935 ~ 2942
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.1572-19.2020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inami Show, Sato Shoma, Kondo Shu, Tanimoto Hiromu, Kitamoto Toshihiro, Sakai Takaomi	4. 巻 40
2. 論文標題 Environmental Light Is Required for Maintenance of Long-Term Memory in <i>Drosophila</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1427 ~ 1439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.1282-19.2019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Imura Eisuke, Shimada-Niwa Yuko, Nishimura Takashi, Huckesfeld Sebastian, Schlegel Philipp, Ohhara Yuya, Kondo Shu, Tanimoto Hiromu, Cardona Albert, Pankratz Michael J., Niwa Ryusuke	4. 巻 30
2. 論文標題 The Corazonin-PTTH Neuronal Axis Controls Systemic Body Growth by Regulating Basal Ecdysteroid Biosynthesis in <i>Drosophila melanogaster</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 2156 ~ 2165.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2020.03.050	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ihara Makoto, Furutani Shogo, Shigetou Sho, Shimada Shota, Niki Kunihiro, Komori Yuma, Kamiya Masaki, Koizumi Wataru, Magara Leo, Hikida Mai, Noguchi Akira, Okuhara Daiki, Yoshinari Yuto, Kondo Shu, Tanimoto Hiromu, Niwa Ryusuke, Sattelle David B., Matsuda Kazuhiko	4. 巻 117
2. 論文標題 Cofactor-enabled functional expression of fruit fly, honeybee, and bumblebee nicotinic receptors reveals picomolar neonicotinoid actions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 16283 ~ 16291
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2003667117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshinari Yuto, Ameku Tomotsune, Kondo Shu, Tanimoto Hiromu, Kuraishi Takayuki, Shimada-Niwa Yuko, Niwa Ryusuke	4. 巻 9
2. 論文標題 Neuronal octopamine signaling regulates mating-induced germline stem cell increase in female <i>Drosophila melanogaster</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e57101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.57101	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計17件(うち招待講演 10件/うち国際学会 14件)

1. 発表者名 Yamagata N, Tanimoto H.
2. 発表標題 Neurochemical substrates underlying optimistic behavioral traits.
3. 学会等名 The 41st Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiramatsu S, Takahashi T, Kondo S, Katow H, Yamagata N, Tanimoto H.
2. 発表標題 Cell type specific visualization of endogenous dopamine receptors.
3. 学会等名 13th Japanese Drosophila Research Conference
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamagata N, Tanimoto H.
2. 発表標題 Neural circuits determining the predictive value of an odor.
3. 学会等名 The 17th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sun H, Nishioka T, Ichinose T, Kaibuchi K, Tanimoto H.
2. 発表標題 Consolidation of appetitive long-term memory through dopamine-Raf signaling.
3. 学会等名 Asia Pacific Drosophila Neuroscience Conference 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamagata N, Tanimoto H.
2. 発表標題 Neurochemical substrates underlying optimistic cognitive bias.
3. 学会等名 Asia Pacific Drosophila Neuroscience Conference 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Okuno T, Hashimoto K, Tanimoto H.
2. 発表標題 Quantification of Aggregation and Associated Brain Areas in Drosophila Melanogaster.
3. 学会等名 IEEE Int Conf on Pervasive Comp & Commun Workshops (PerCom 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tanimoto H.
2. 発表標題 Determination of reward values by regulation of dopamine neurons.
3. 学会等名 The Inaugural Asia-Pacific Drosophila Neurobiology Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yamagata N, Takahashi T, Kondo S, Imanishi Y, Tanimoto H.
2. 発表標題 State dependent feeding control by a nutrient signal.
3. 学会等名 The 39th Annual Meeting of The Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tanimoto H.
2. 発表標題 Segmentation of dopamine signalling in the fly brain.
3. 学会等名 The 44th Naito Conference "Decision Making in the brain - Motivation, Prediction, and Learning" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Okuno T, Ikarashi M, Sirigrivatanawong P, Hashimoto K, Tanimoto H.
2. 発表標題 Classification of the direction and behavior of fruit flies by machine vision and image-based CNN.
3. 学会等名 Neuro Informatics 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tanimoto H.
2. 発表標題 Segmentation of dopamine signaling in the fly brain.
3. 学会等名 Neuroscience Program of Academia Sinica Symposium on Drosophila Neurobiology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tanimoto H.
2. 発表標題 Memory by dopamine signals in the mushroom body.
3. 学会等名 The EMBO-kavli meeting "Neural circuits and behaviour of Drosophila" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sun H, Ichinose T, Yamagata N, Abe A, Tanimoto H.
2. 発表標題 Molecules functioning downstream of dopamine signaling for olfactory associative learning in the mushroom body.
3. 学会等名 The 4th Asia-Pacific Drosophila Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kondo S, Takahashi T, Imanishi Y, Katow H, Hiramatsu S, Lynn K, Abe A, Kumaraswamy A, Yamagata N, Tanimoto H
2. 発表標題 Neurochemical organization of the Drosophila brain visualized by endogenously tagged neurotransmitter receptors
3. 学会等名 Gordon Research Conference 2019 - Modulation of Neural Circuits and Behavior (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kondo S, Takahashi T, Imanishi Y, Katow H, Hiramatsu S, Abe A, Kumaraswamy A, Yamagata N, Tanimoto H
2. 発表標題 Neurochemical organization of the Drosophila brain visualized by endogenously tagged neurotransmitter receptors
3. 学会等名 The 48th Naito Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamagata N, Takahashi T, Ichikawa R, Tanimoto H
2. 発表標題 Disinhibition of rewarding dopamine neurons causes cognitive bias
3. 学会等名 The 18th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory perception (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tanimoto H
2. 発表標題 Neurochemical organization of the Drosophila brain visualized by endogenously tagged neurotransmitter receptors
3. 学会等名 The 5th Asia Pacific Drosophila Research Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	近藤 周 (Kondo Shu) (90408401)	国立遺伝学研究所・遺伝メカニズム研究系・助教 (63801)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	山方 恒宏 (Yamagata Nobuhiro) (50716248)	東北大学・生命科学研究科・准教授 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	Janelia Research Campus		
ドイツ	University of Konstanz		