

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21700341

研究課題名(和文) メダカの個体間相互作用に関わる神経回路及び遺伝子の検索

研究課題名(英文) Search for genes and neural circuits involved in medaka interindividual interaction.

研究代表者

竹内 秀明 (TAKEUCHI HIDEAKI)

東京大学・大学院理学系研究科・助教

研究者番号：00376534

研究成果の概要(和文)：メダカの個体間相互作用(群れ行動)を誘導する行動実験系を確立した。さらにメダカ脳において条件的遺伝子操作法を確立し、メダカの社会性行動に関わる候補遺伝子として神経ペプチドをコードする遺伝子群を同定した。

研究成果の概要(英文)：We established a behavioral system to induce medaka coordinated movements. Furthermore we established a method for the conditional gene manipulation in the medaka brain and identified some genes encoding neuropeptides as candidate genes involved in medaka social behavior.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：分子生物学

科研費の分科・細目：神経科学一般

キーワード：メダカ、社会性行動

1. 研究開始当初の背景

メダカは日本国内で江戸時代からペットとして飼育され、「メダカの学校」と呼ばれる群れ行動や攻撃行動、また雄の求愛円舞(配偶行動)など多様な個体間相互作用の様式が観察されている。一方でメダカはモデル生物として遺伝子導入法やノックアウトの作出など洗練された分子遺伝学的手法が確立している。しかしながら、メダカの脳機能を分子遺伝学的手法で解析した研究例はなかった。

2. 研究の目的

メダカ社会性行動に関わる脳機能を分子遺伝学的手法で解明する。

3. 研究の方法

(1) メダカの個体間相互作用を定量化する行

動実験系を確立する。

(2) 社会性行動に関わる脳神経回路候補の機能を修飾するために、メダカの脳における条件的遺伝子操作法を確立する。

(3) メダカ社会性に関わる遺伝子または神経基盤の候補を同定する。

(4) 社会性行動に関わる脳神経回路の候補を検索するために、メダカの行動依存に活性化する脳領域を同定する手法を確立する。

4. 研究成果

(1) メダカの群れ様行動を誘導する新規行動実験系の確立。視運動反応によってメダカの群れ様行動(Schooling, 行動)が誘導されることを示した。また当該行動は同種選択的な相互作用の結果であり、また成長に伴って発達することを示した。本研究成果は国際

雑誌 *PLoS One* に掲載された。

(2) アデノウイルスを利用したメダカ脳の条件的遺伝子操作法の確立。メダカを用いてアデノウイルスが硬骨魚類の脳に感染することを世界で初めて示し、アデノウイルス感染によって Cre 遺伝子を強制発現することで、Cre-LoxP システムが動くことを確認した。本手法を用いることによって、メダカの社会性行動に関わる神経回路の候補を遺伝学的手法でラベルしたり、機能修飾することが可能になった。本研究成果は国際雑誌 *FEBS letters* に掲載された。

(3) メダカ成体脳における細胞増殖領域のマッピング。メダカは孵化後の成長に伴って、群れ様行動や配偶者選別などの社会性行動を示すようになる。本研究ではメダカの成長に伴う脳発達の一つの様式として神経新生の様式を記載した。本研究成果は国際雑誌 *Brain Research* に掲載された。

(4) メダカ成体脳に存在する神経ペプチドの同定。メダカ社会性行動の制御に関わる候補分子として神経ペプチドに注目した。本研究では MALDI-TOF/MS 法を用いて、メダカの終脳、視床下部、脳下垂体に存在するペプチドを合計 16 種類同定した。終脳から同定されたペプチドの一つサブスタンス P をコードする遺伝子の発現様式を *in situ* hybridization 法で解析したところ、終脳の一部の領域と自律神経（生理状態の制御）の中樞である視床下部に発現が検出された。本研究成果は国際雑誌 *General and Comparative Endocrinology* に掲載された。

(5) 初期応答遺伝子 (*c-fos*) を用いた神経興奮領域のマッピング手法の確立。メダカの脳において *c-fos* が配偶行動依存に発現誘導されることを確認した。*in situ* hybridization 法においてイントロンプローブを用いた結果、神経活動依存に新規合成された未成熟な mRNA だけを検出するため、高い時間解像度で行動依存の神経興奮を検出できた。これにより初期応答遺伝子を用いてメダカ社会性行動依存に活動する脳領域を検索することが可能になった。本研究成果は国際雑誌 *Biochem. Biophys. Res. Commun.* に掲載された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 5 件)

(1) Okuyama T, Suehiro Y, Imada H, Shimada A, Naruse K, Takeda H, Kubo T, Takeuchi H† (2011) Induction of *c-fos* transcription in the medaka brain (*Oryzias latipes*) in response to mating stimuli. *Biochem.*

Biophys. Res. Commun. 404 453-457.

(2) Suehiro Y, Kinoshita M†, Okuyama T, Shimada A, Naruse K, Takeda H, Kubo T, Hashimoto M†, Takeuchi H† (2010) Transient and permanent gene transfer into the brain of the teleost fish medaka (*Oryzias latipes*) using human adenovirus and the Cre-loxP system. *FEBS Lett.* 584, 3545-3549.

(3) Imada H, Hoki M, Suehiro Y, Okuyama T, Kurabayashi D, Shimada A, Naruse K, Takeda H, Kubo T, Takeuchi H† (2010) Coordinated and Cohesive Movement of Two Small Conspecific Fish Induced by Eliciting a Simultaneous Optomotor Response. *PLoS ONE* 5, e11248.

(4) Kuroyanagi Y*, Okuyama T*, Suehiro Y, Imada H, Shimada A, Naruse K, Takeda H, Kubo T, Takeuchi H† (2010) Proliferation zones in adult medaka (*Oryzias latipes*) brain. *Brain Res.* 1323, 33-40.

(5) Suehiro Y, Yasuda A, Okuyama, Imada H, Kuroyanagi, Y, Kubo T, Takeuchi H† (2009) Mass spectrometric map of neuropeptide expression and analysis of the gamma-prepro-tachykinin gene expression in the medaka (*Oryzias latipes*) brain. *Gen. Comp. Endocrinol.* 161, 138-145.

〔学会発表〕(計 21 件)

(1) Okuyama, T., Suehiro, Y., Imada, H., Shimada, A., Naruse, K., Takeda, H., Kubo, T., Takeuchi, H. “Analysis of The Neural and Molecular bases that Underlie Female Mating Acceptance of Medaka Depending on Visual Information” The 18th CDB Meeting “Common Themes and New Concepts in Sensory Formation”、神戸 (2009 年 4 月 14 日)

(2) Suehiro, Y., Okuyama, T., Imada, H., Shimada, A., Naruse, K., Takeda, H., Kubo, T., Takeuchi, H. “Analysis of neural mechanism for the optomotor response of the medaka fish” The 18th CDB Meeting “Common Themes and New Concepts in Sensory Formation”、神戸 (2009 年 4 月 14 日)

(3) Takeuchi, H. “Analysis of Social Interactions Using Adult Medaka Fish” The 18th CDB Meeting “Common Themes and New Concepts in Sensory Formation”、神戸 (招待講演 2009 年 4 月 14 日)

(4) 坪子理美、末廣勇司、奥山輝大、島田敦子、武田洋幸、成瀬清、久保健雄、竹内秀明 “メダカ近交系間における、明暗刺激に対する逃避様反応の定量的比較” 第 15 回小型魚類研究会、名古屋 (2009 年 9 月 12 日)

(5) 坪子理美、末廣勇司、奥山輝大、島田敦子、武田洋幸、成瀬清、久保健雄、竹内秀明 “メダカ *Oryzias latipes* 近交系間における、視覚刺激に対する逃避様行動の定量的比較” 日本動物学会第80回大会、静岡(2009年9月17日)

(6) 坪子理美、末廣勇司、奥山輝大、島田敦子、武田洋幸、成瀬清、久保健雄、竹内秀明 “メダカ近交系間における、視覚刺激に対する逃避様反応の定量的比較” 第32回日本分子生物学会年会、横浜、(2009年12月10日)

(7) 奥山輝大、末廣勇司、今田はるか、島田敦子、武田洋幸、久保健雄、竹内秀明 “小型魚類メダカを用いた配偶者選別の分子・神経基盤解析” 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会、横浜(2009年12月10日)

(8) Okuyama, T., Suehiro, Y., Imada, H., Shimada, A., Naruse, K., Takeda, H., Kubo, T., Takeuchi H. “Mapping of brain regions involved in female mating acceptance mediated by visual information in medaka fish” The 39th annual meeting of the Society for Neuroscience, Chicago, October 19, 2009

(9) Suehiro, Y., Okuyama, T., Imada, H., Shimada, A., Naruse, K., Kurabayashi, D., Takeda, T., Kubo, T., Takeuchi, H. “Analysis of neural mechanism for the optomotor response of the medaka fish” The 39th annual meeting of the Society for Neuroscience, Chicago, October 19, 2009

(10) Takeuchi, H. “Molecular/ neural basis involved in social interaction among medaka fish” 第87回日本生理学会大会「比較的単純なモデル動物を用いた運動・行動研究」、松島(招待講演2010年5月21日)

(11) 竹内秀明 “メダカの社会性行動を生み出す脳機能の解析” 日本分子生物学会春季シンポジウム「身体・脳システムの心理表出行動と分子動態基盤」、松島(招待講演2010年6月8日)

(12) 奥山輝大、末廣勇司、今田はるか、島田敦子、田中実、成瀬清、武田洋幸、久保健雄、竹内秀明 “視覚依存の配偶者選別において行動異常を示すメダカ変異体の同定” 日本分子生物学会春季シンポジウム「身体・脳システムの心理表出行動と分子動態基盤」、松島(招待講演2010年6月8日)

(13) Takeuchi, H. “Analysis of Social behaviors in Adult Medaka Fish” The BRH Seminar “Evolution & Diversity of Fishes、大阪(招待講演2010年6月24日)

(14) 落合崇、末廣勇司、久保健雄、竹内秀明 “メダカの集団学習に関わる個体間相互作用の解析とそれを担う脳領域の探索” 第16回 小型魚類研究会、埼玉(2010年9月18日)

(15) 横井佐織、奥山輝大、竹内秀明、久保健雄 “メダカを用いたオスの配偶者防衛行動の解析” 第16回 小型魚類研究会、埼玉(2010年9月18日)

(16) 末廣勇司、木下政人、奥山輝大、今田はるか、島田敦子、成瀬清、武田洋幸、橋本光広、久保健雄、竹内秀明 “メダカ脳におけるアデノウイルスを用いた条件的遺伝子操作法” 日本動物学会第81回大会、東京(2010年9月23日)

(17) 末廣勇司、木下政人、奥山輝大、今田はるか、島田敦子、成瀬清、武田洋幸、橋本光広、久保健雄、竹内秀明 “メダカ脳におけるアデノウイルスを用いた条件的遺伝子操作法” 第33回日本分子生物学会年会、神戸(2010年12月7日)

(18) 横井佐織、奥山輝大、竹内秀明、久保健雄 “Analysis of neural mechanism for mate guarding behavior” 第33回日本分子生物学会、神戸(2010年12月7日)

(19) 奥山輝大、末廣勇司、今田はるか、阿部秀樹、田中実、島田敦子、成瀬清、武田洋幸、岡良隆、久保健雄、竹内秀明 “Identification of medaka mutants with a defect in female mating acceptance depending on visual information” 第33回日本分子生物学会、神戸(2010年12月7日)

(20) Okuyama, T., Suehiro, Y., Imada, H., Tanaka, M., Shimada, A., Naruse, K., Takeda, H., Kubo, T., Takeuchi, H. “Identification of medaka mutants with a defect in female mating acceptance depending on visual female mating acceptance depending on visual information” The 40th annual meeting of the Society for Neuroscience, San Diego, November 15, 2010

(21) Suehiro, Y., Kinoshita, M., Okuyama, T., Shimada, A., Naruse, K., Takeda, H., Kubo, T., Hashimoto, M., Takeuchi, H. “Gene transfer into the brain of the teleost fish medaka (*Oryzias latipes*) using human adenovirus and the Cre-loxP system” The 40th annual meeting of the Society for Neuroscience, San Diego, November 15, 2010

[図書] (計0件)
[産業財産権]
○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：

出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

(1) ホームページ等

<http://researchmap.jp/Takeuchi/>

(2) シンポジウムの開催

竹内秀明主催 ” 配偶行動の分子神経基盤～
実験動物の研究からヒトの恋愛感情はどこ
まで理解できるのか？～” 基生研重点共同
利用ミニシンポジウム（2011年3月8日）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹内秀明 (TAKEUCHI HIDEAKI)
東京大学・大学院理学系研究科・助教
研究者番号：00376534