

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21700360

研究課題名（和文）

ショウジョウバエ脳における高次聴覚神経回路の構造と機能の徹底解明

研究課題名（英文）

Comprehensive analysis of the higher-order auditory circuit in the fruit-fly brain

研究代表者

上川内 あづさ (Kamikouchi Azusa)

名古屋大学・理学研究科・教授

研究者番号：00525264

研究成果の概要（和文）：

本研究課題では、ショウジョウバエを実験モデルとして、有用な音情報を抽出して意味のある神経信号に変換する脳内過程の神経基盤解明を目的とした。研究期間内に、全3,939種類にもおよぶ高次聴覚経路を標識するショウジョウバエ系統のスクリーニングを終えた。これにより得られた系統を用いた解析から、ショウジョウバエの脳における二次聴覚神経回路の精密な投射地図を作製した。さらにそれぞれの神経経路において情報が伝達される向きを推定した。この成果の意義は、一部の投射経路しか分かっていなかったショウジョウバエの二次聴覚神経回路について、その全貌を推定することが出来た点である。

研究成果の概要（英文）：

The aim of this research project is to clarify the neuronal basis that translate a given sound into meaningful neural signals in a brain. During the period of the project, we screened 3,939 GAL4 enhancer-trap strains to visualizes the central auditory circuit in a fly brain. 3-dimensional high-resolution analysis of these brain established a map for the neural circuit formed by the 2nd-order auditory neurons. Such neuroanatomical map for auditory circuits in the brain serves a basis to identify the neural substrates for acoustic communications in *Drosophila* brain.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：神経回路、脳、聴覚、ショウジョウバエ

## 1. 研究開始当初の背景

音は、多くの動物にとって外界の環境を認知するための重要な外部刺激である。動物が音情報の意味を理解するためには、音受容後に、有用な音情報を抽出して意味のある神経信号に変換する脳内過程が必要である。これら一連の神経処理過程の全体像を理解するためには、音受容器による音波の受容から有用

な聴覚情報の分離・抽出に至る全聴覚神経回路の構造および機能を単一細胞レベルで解明することが必要であるが、巨大で複雑な脳を有する哺乳類や鳥類において、その達成は困難である。その点ショウジョウバエは、脳の動作原理を神経回路レベルで解明するための良いモデル系を提供する。そこで申請者は回路レベルでの聴覚研究を行う実験モデ

ルとしてショウジョウバエに着目し、研究開始時まで整備を進めて来た。しかし、音の高次処理を担うと考えられる二次聴覚神経の回路構造はほとんど同定されておらず、二次聴覚野の内部構造も不明であった。低次聴覚神経でパラメータ分離された音情報の脳内処理機構を解明するためには、さらなる高次聴覚神経細胞や高次聴覚野の同定、およびそれらが構成する回路の構造と機能の解明を進める必要があるが、これについても国内外ともに未進行であり、高次処理過程を担う神経回路基盤は全く分かっていないのが現状であった。

## 2. 研究の目的

本研究では、神経回路レベルで脳機能を解析するための優れた動物モデルであるショウジョウバエを用いて、二次聴覚神経細胞群が形成する神経回路の詳細構造を単一細胞レベルで解明する。これにより、未同定の二次聴覚野を体系的に同定し、それらの内部構造を決定する。また、それぞれの神経経路における神経出力部位を同定することで情報の流れる向きを決定し、同定した神経回路上においてどのような情報がどの脳領域からどの脳領域へ伝わるのかを解明する。以上により二次聴覚野の精密な解剖学的地図を作成する。

## 3. 研究の方法

二次聴覚野を構成する神経細胞を様々なパターンで標識するショウジョウバエ GAL4 系統を用いて単一細胞をランダムに標識できる熱ショック・フリップアウト法 (Wong *et al.*, *Cell* 109:229-41, 2002) を行い、二次聴覚神経の投射様式を単一細胞レベルで網羅的に同定した。また、神経出力部位を同定する目的で、二次聴覚神経に二種類のマーカータンパク質 DsRed、Neuronal-Synaptobrevin::GFP を GAL4/UAS 法を用いて共発現させ、各神経細胞の全体構造および出力シナプスの位置を標識した (Ito *et al.*, *Learn Mem* 5:52-77, 1998; Verkhusha *et al.*, *J Biol Chem* 276:29621-4, 2001)。このようにして遺伝学的に作成したショウジョウバエ個体からそれぞれの脳を解剖により摘出し、マーカータンパク質などに対する抗体染色を行うことで標識を可視化した。得られた脳は共焦点レーザー顕微鏡を用いて三次元画像を取得し、三次元再構成することにより立体的なデータを得た。

## 4. 研究成果

全 3,939 種類にもおよぶ高次聴覚経路を標識するショウジョウバエ系統のスクリーニングを終えた。これにより得られた系統を用い

た解析から、ショウジョウバエの脳における二次聴覚神経回路の精密な投射地図を作製した。さらにそれぞれの神経経路において情報が伝達される向きを推定した。以上の研究から、一部の投射経路しか分かっていなかったショウジョウバエの二次聴覚神経回路について、その全貌を推定することができた。また、ショウジョウバエの音に対する応答行動、重力に対する応答行動を測定する方法、ならびに聴覚神経の応答をカルシウムイメージング法により可視化する方法を新たに確立した。さらに、ショウジョウバエが自身の聴覚器の感度を適切に制御するしくみとして、感覚器それ自体が自律的に制御していることを発見した。以上の研究から、ショウジョウバエ聴覚系の新たな特性を体系的に発見した。

## 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 9 件)

1. Kamikouchi A, Wiek R, Effertz T, Göpfert MC, Fiala A. Transcuticular optical imaging of stimulus-evoked neural activities in the *Drosophila* PNS. **Nat Protocols** 5, pp1229-1235. 2010. (査読あり)
2. Kamikouchi A, Albert JT, Göpfert MC. Mechanical feedback amplification in *Drosophila* hearing is independent of synaptic transmission. **Eur J Neurosci** 31, pp697-703. 2010. (査読あり)
3. Inagaki HK, Kamikouchi A, Ito K. Methods for quantifying simple gravity sensing in *Drosophila melanogaster*. **Nat Protocols** 5, pp20-25. 2010. (査読あり)
4. Inagaki HK, Kamikouchi A, Ito K. Protocol for quantifying sound-sensing ability of *Drosophila melanogaster*. **Nat Protocols** 5, pp26-30. 2010. (査読あり)
5. 上川内あづさ「分子遺伝学で探るショウジョウバエの聴覚と重力感覚の神経回路」*生化学* 83(5), pp399-402. 2011. (査読あり)
6. 上川内あづさ、伊藤啓「聴覚神経系のシステムニューロバイオロジー：遺伝子発現誘導系を駆使した新たな研究戦略 Systems neurobiology for auditory systems: a new strategy using a gene-expression induction system」*実験医学* 29(4) pp538-543. 2011. (査読なし)

7. 上川内あづさ、伊藤啓「ショウジョウバエの音と重力の受容システムの解明 Analysis of the *Drosophila* gravity- and sound-sensing systems」生物物理 50(6), 282-285, 2010. (査読なし)
8. 上川内あづさ、稲垣秀彦、萬涼子、伊藤啓「解剖学・生理学・行動学の統合的解析モデルとしてのショウジョウバエを利用した音・重力・風情報の脳内処理機構の解明 Application of *Drosophila* as an integrative neural model to understand how sound, gravity, and wind information are processed in the brain」蛋白質核酸酵素 共立出版 vol.54(14), 1817-1826. 2009. (査読なし)
9. 上川内あづさ、稲垣秀彦、伊藤啓「ショウジョウバエにおける音、重力、風検知の神経基盤 The neural mechanism underlying sound, gravity and wind senses in *Drosophila*」実験医学 羊土社 27(13), 2009年8月号, pp2105-2108. 2009. (査読なし)

[学会発表] (計12件)

1. Kamikouchi A, Seki H, Mizuno H, Miyakawa H, Ito K, Morimoto T. The auditory map in the fly brain. Gender Equality Committee symposium : Trends in Neuroscience (S2-J-1-2) 第34回日本神経科学大会、横浜、2011年9月14日(招待)
2. Kamikouchi A, Seki H, Mizuno H, Miyakawa H, Ito K, Morimoto T. The gravity- and sound-sensing systems in the fruit fly. Comparative mechanobiology from monad to human S32-3. 8th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry、名古屋、2011年6月3日(招待)
3. 上川内あづさ、稲垣秀彦、Göpfert MC、宮川博義、森本高子、伊藤啓 ショウジョウバエにおける音、重力、風検知の神経基盤、第115回日本解剖学会総会、盛岡、2010年3月28日(招待) 1S6-AM1
4. 上川内あづさ、稲垣秀彦、Göpfert MC、宮川博義、森本高子、伊藤啓 ショウジョウバエにおける音、重力、風検知の神経基盤、第115回日本解剖学会総会、盛岡、2010年3月28日(招待) 1S6-AM1
5. Kamikouchi A, Ito K, Miyakawa H, Morimoto T. The neural pathway for hearing and gravity-sensing in *Drosophila*. 第32回日本分子生物学会年会、横浜、2009年12月9日(招待) 1S15-4
6. 上川内あづさ、稲垣秀彦、Effertz T, Fiala A, 伊藤啓, Göpfert MC. 「The neural circuits of *Drosophila* gravity sensing and hearing」第32回日本神経科学大会、名古屋、2009年9月17日(若手シンポジウムオーガナイザー) SY2-A1-4
7. Seki H, Ishiguro Y, Miyakawa H, Morimoto T, Kamikouchi A. Anatomy of the secondary auditory neurons in the *Drosophila* brain. 第34回日本神経科学大会、横浜、2011年9月14日
8. Seki H, Uchida A, Ito K, Miyakawa H, Morimoto T, Kamikouchi A. Identification of neurons that project to the secondary auditory center in the *Drosophila* brain. 第33回日本神経科学大会、神戸、2010年9月2日
9. Kamikouchi A, Hikita K, Mizuno H, Sato R, Miyakawa H, Ito K, Morimoto T. Anatomy and function of the secondary auditory neurons AMMC-B1 in the fruit fly brain. 第33回日本神経科学大会、神戸、2010年9月2日
10. Kamikouchi A, Hikita K, Seki H, Uchida A, Sato R, Ito K, Miyakawa H, Morimoto T. Systematic identification of higher-order auditory neurons in a fruitfly brain. 国際バイオリソースシンポジウム「ショウジョウバエ」、京都、2010年3月17日
11. Kamikouchi A, Hikita K, Seki H, Uchida A, Ito K, Miyakawa H, Morimoto T. Systematic screening of higher-order auditory neurons in the fruitfly brain. CSH meeting “NEUROBIOLOGY OF *DROSOPHILA*”, Cold Spring Harbor, 2009年10月1日
12. Kamikouchi A, Uchida A, Seki H, Hikita K, Ito K, Miyakawa H, Morimoto T. Systematic screening of higher-order auditory neurons in the *Drosophila* brain. 第9回日本ショウジョウバエ研究集会、静岡、2009年7月6、7日

[図書] (計1件)

1. 上川内あづさ「分子生物学的手法を用いたショウジョウバエ聴覚系の解析」In: 分子昆虫学 ポストゲノムの昆虫研究 (神村学ら編) 共立出版 2009

6. 研究組織
  - (1) 研究代表者

上川内 あづさ (Kamikouchi Azusa)

研究者番号 : 00525264

(2) 研究分担者  
なし

(3) 連携研究者  
なし