

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 4 月 25 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24700302

研究課題名(和文)探索行動における情報処理機構の解明

研究課題名(英文)Exploring information processing mechanisms of searching behavior

研究代表者

塚田 祐基(Tsukada, Yuki)

名古屋大学・理学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：80580000

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：動物の「探索行動」は環境からの情報を高度に処理し、行動を戦略的に制御することで成り立っているが、神経回路による探索行動についての情報処理機構はほとんど分かっていない。神経回路の接続地図が完全に明らかになっている線虫*C.elegans*の温度走性をモデルとし、探索行動中の特定の神経細胞活動をカルシウムイメージングで取得、数理解析を行うことで、神経回路による探索行動の制御機構の一端を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Animal's searching behavior consists of information processing mechanisms and strategic regulation of behavioral components; the neural basis to regulate searching behavior remains unclear. To understand information processing mechanisms of the neural circuit for searching behavior, we used the chemotaxis behavior of *Caenorhabditis elegans* as a model system. Neural activity of freely moving worm is acquired by our tracking/calcium imaging system, and mathematical analysis identified the response function of a specific type of neuron. Reconstruction of neural activity using the identified response function and input stimulus showed relationship between the neural activity and chemotaxis behavior.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生体生命情報学

キーワード：神経科学 行動

1. 研究開始当初の背景

動物が自然環境において餌やパートナー、より生育条件の良い環境を探するときに見られる移動は「探索行動」と呼ばれており、生存戦略の基本的なものとして進化と共に機能を発展させてきた。通常、探索行動は感覚器の情報を単純に行動へ反映するわけではなく、行動を制御するための独自の戦略に基づいている。この戦略についての観察や理論的研究は多くあるが(e.g. Edwards *et al.*, *Nature* 2007) 動物の行動を制御している神経回路が、探索戦略をどのように実現しているかということとはほとんど分かっていなかった。線虫は302個の神経細胞が全て同定されており、神経間の接続も電子顕微鏡レベルで明らかになっているため、神経回路の機能を調べるのに非常に適している生物である。この線虫は視覚・聴覚がないため、温度や匂いなどの近距離に対する感覚を利用し、体長の数百倍以上の広さを探索する。我々はこの中で温度感覚に着目し、能動的に探索行動を担う神経回路機構を調べている。温度を使った探索行動に関わる神経細胞は同定されており(Mori and Ohshima., *Nature* 1995)、たった十数個の神経回路でこの行動が実現されていると考えられているが、温度情報をどのように探索行動に利用しているかは分かっていなかった。そもそも、連続的な温度変化を神経回路がどのように認識し、行動へ利用しているかということも不明であり、温度感知における基本的な仕組みにおいても分からない点が多かった。

さらに、探索行動のような動的な仕組みについては、定量的なデータ取得と数理解析が鍵となるが、これらを組み合わせたアプローチを行っている研究者は多くなかった。そこで本研究ではこの問題に対し、行動と神経活動の同時計測を行い、数理モデルと合わせて解析するアプローチをとるという独自の戦略をとった。

温度を利用した探索行動(温度走性)は、通常の実験環境では1時間程度で安定化することを当研究室で確認しており(Itoh *et al.*, *J. Neurosci. Meth.* 2006)、そのため探索行動の解明には1時間程度の観察が必須となる。申請者は長時間の詳細な行動変化を数値化するために、当研究室で開発した自動追尾システムを用い、線虫の行動を動画で記録し、詳細に解析する手法を開発した。さらにこの申請者が開発したシステムを用いて、動画データから体の軸に沿った角度の変化を数値化、可視化することにより、温度走性変異体の行動を定量的に示し、行動に影響する新規分子の解析を実現した(Miyara *et al.* *PLoS Gent.* 2011)。本研究の開始時期では、温度走性中の行動を記録すると同時に、温度受容

を担っていることが明らかとなっている AFD 神経細胞の定量的な神経活動の計測を進めており、世界で初めて、温度走性中の神経活動を長時間計測することを可能にしていた。計測の結果、AFD 神経細胞は線虫が緩やかな温度勾配を移動する際にはピークを持った活動を示し、この活動は絶対値ではなく温度変化値によって引き起こされることが示唆されていた。これは連続的な変化に対してイベント(点)としての反応を示唆するもので、これらのデータから、本研究では動物が連続量である温度を点過程として認識しているという仮説のもと、探索行動における情報処理機構の解明を目指すこととした。

2. 研究の目的

本研究では、感覚末端で温度情報を受容していると考えられる AFD 神経細胞の活動と、温度走性中の線虫の行動を同時計測することで、神経細胞が温度入力に反応しているタイミングと、そのときの温度変化、行動変化の関係を明らかにし、温度認識とその実効的な利用機構の解明を目的とした。またその過程として、温度受容神経細胞 AFD の温度応答特性を、温度入力と行動系列に基づいて明らかにすることも目指した。線虫の探索行動戦略は時間と共に変化することが示されているが(Gray *et al.*, *PNAS* 2005)、温度変化の系列にも依存して行動の変化が起こることも予想される。そのため、温度受容細胞の反応特性と、この行動戦略の入力依存的な変化を、情報量最大化行動戦略と比較することにより、生物が理論的に考えられる効率的な行動戦略を神経活動からどのように実現しようとしているかを明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

温度勾配上を移動する線虫をコンピュータで自動的に追尾をしながら顕微鏡視野内に捉え、遺伝的にコードされるカルシウムインディケータ(cameleon YC3.60)を AFD 特異的に発現制御するプロモーター(gcy-8)を用い、温度受容神経細胞 AFD に発現させることで、温度勾配環境を探索しているときの AFD の活動を測定した。このとき得られるデータは線虫の時系列 xy 座標、サーモグラフィで得られるプレート上の温度、(神経活動を表す)カルシウムシグナル、顕微鏡視野の動画である。これらを解析することにより、線虫が触れている温度、前進や後退、転回などの行動、神経活動、それぞれの時系列の情報を得ることができる。さらに、温度、神経活動から AFD 神経細胞の入力応答を関数化し、行動変化の時系列情報と合わせることで数理的な観点から探索行動を解析した。また、実験で得られたデータから数理モデルを立て、シミュレーションすることで探索行動時の AFD 活動モデルの再現性を解析した。

さらに線虫の生育温度や、えさ条件を変える事で、異なる条件付けをされた個体が、ほぼ同じ温度環境に対しどのような行動を生成するか実験を行い、それらの定量的なデータ取得を行った。先行研究(Kimura *et. al. Curr. biol.* 2004)や、これまで取得したデータは飼育温度依存的にAFDが活動することを示していたため、この変化が探索戦略にどのように影響を与えるか不明であった。条件付けが違つた状況でAFDの活動や探索行動を定量化することで、これらの違いを明らかにすることを旨とした。

観測された画像・定量データを数理モデルと比較することで、直感的な理解がしにくかつた行動中の入出力関係を明らかにする。

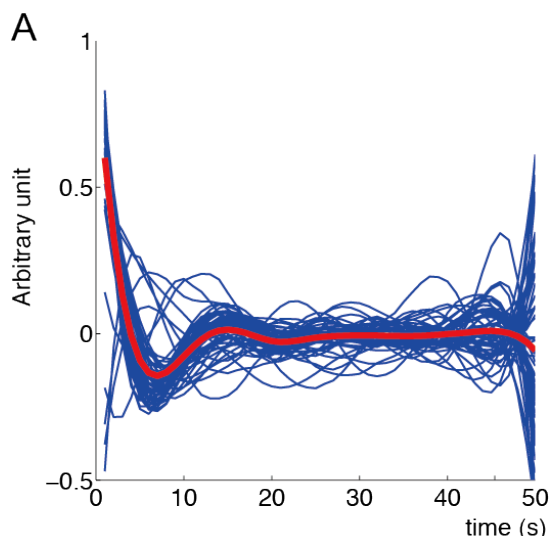
本研究で得られた温度勾配上を行動中の神経活動と、数理モデルにより再構成したシミュレーションを比較することで、環境からの情報をどのように利用しながら探索行動を制御しているか考察した。さらに、その情報入力に対する探索行動を、いくつかの数理モデルに基づきシミュレーションを行い、その統計量を実際の探索行動と比較することにより、線虫の探索行動がどのようなモデルに近いかが検証することを旨とした。

4. 研究成果

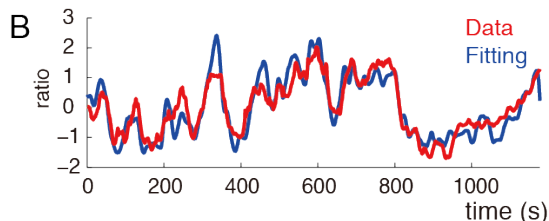
研究の主な成果

研究代表者らが開発した自由行動中の個体を追尾/カルシウムイメージングを行うシステムを用い、温度勾配上を探索する線虫のデータをさまざまな飼育温度条件において取得した。これにより温度走性中の温度勾配、温度受容神経細胞AFDの活動、そして線虫の行動軌跡を同時に記録したデータを得ることができ、AFD神経細胞が温度入力を受けた時系列と、そのときの実際のAFDの活動、そして行動出力について定量的に解析・評価できるようになった。

解析の結果、これまで得られた結果と同様にAFD神経細胞は緩やか(0.1度/分)かつ滑らかな温度上昇に対しても、スパイク状の離散的な応答反応を示すことが確認された。さらにえさ条件、飼育温度条件を変えて実験を行った結果、AFDの温度に対する応答は飼育温度によって変化するが、えさ条件を変えても変化しないことが示された。一方でえさ条件を変えた場合、行動は変化するから、温度受容神経細胞AFD自体は飼育温度依存的に応答特性が変化するが、AFDの活動と行動の関係はえさ条件により変化する事が示唆された。また、AFD神経細胞のシグナルはそのまま行動へと反映されるわけではなく、方向転換頻度の制御という形へ情報が変換されることが示された。さらに、AFDの動的な応答特性を評価するために、温度入力に対する神経活動を応答関数として推定した(図A)。推定された応答関数は微分検知器の性質を示し、個体差や条件の差がほぼないことが示された。さらに、推定された応答関数と実際



に計った温度の時系列を使ってAFD神経細胞の活動を再構築すると、実際のAFD神経細胞の活動時系列とよく合う事が示された(図B、縦軸はYFP/CFP)。これにより、推定した応答関数は実際のAFDの特性を良く表し、AFDへ



の温度入力に対する情報処理機構を同定できたと考えられる。

得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

自由行動中の神経細胞の活動を長時間記録する方法は神経科学において重要な技術であり、盛んに研究されている。本研究で開発・改良した技術は国内外含めて特出したものであり、解析方法と得られた結果も含めて神経回路による行動制御の研究に非常に有用なものである。また、応答関数の推定はこれまで固定した動物における電気生理的な研究にもちいられてきた手法であるが、自由に行動する個体の非侵襲的な活動計測と組み合わせた応答関数の推定はまだ例がほとんどなく、さらに自由行動中の感覚刺激の推定値と組み合わせて神経活動の再構築を行うことで、神経細胞による環境の認識に対する理解を深めることができるようになった。神経活動と行動の定量的なデータから、環境の認識とそれを基にした行動選択までの仕組みをつなげた研究は全生物を通してこれまでになく、本研究は今後、他の生物でも進められることが予想される研究アプローチの土台となるものを構築した。

今後の展望

本研究では探索行動中の神経活動の例として、感覚神経細胞であるAFDの活動を計測し、その時系列と入力である温度刺激、出力であ

る行動の時系列の関係について解析した。今後はさらに介在神経細胞であるAIYなど他の神経細胞の計測や解析を同様のアプローチで進めることで、感覚神経細胞で受容された刺激に対しての情報変換が神経回路内でどのように行われるか、またその結果となる神経活動がどのような行動と関連するののかということ調べるのが可能となる。これにより、神経回路における情報処理機構が、探索行動などの具体的な機能と結びついた形で明らかとなり、神経回路機能の解明に結びつくこと期待される。

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 2 件)

Sasakura, H., Tsukada, Y., Takagi, S. and Mori, I. "Japanese studies on neural circuits and behavior of *Caenorhabditis elegans*." *Front. Neural Circuits* 7:187. doi: 10.3389/fncir.2013.00187 (2013) 査読あり

Tsukada, Y., Hashimoto, K. "Feedback regulation of microscopes by image processing." *Development Growth Differ.* 55:550-562 doi: 10.1111/dgd.12056. (2013) 査読あり

[学会発表](計 6 件)

Y. Tsukada, N. Honda, A. Murase, T. Shimowada, O. Noriyuki, A. Kuhara, S. Ishii, I. Mori. System identification for thermosensory neuron encoding thermal environment. 19th international *C. elegans* meeting June 27, 2013. UCLA (USA)

A. C. Giles, Y. Tsukada, S. Nakano, I. Mori. Toward the identification of behavioral strategies underlying *C. elegans* thermotaxis using the Multi-Worm Tracker. 19th international *C. elegans* meeting June 28, 2013. UCLA (USA)

Y. Tsukada, C. Min, X. Fei, K. Hashimoto, I. Mori. High-speed, high-magnification tracking system for calcium imaging of neurite during free moving. 19th international *C. elegans* meeting June 29, 2013. UCLA (USA)

塚田 祐基 動物の探索行動をモデル化するための定量解析「システム分子行動学」数理シンポジウム(招待講演)2012年05月11日東京大学本郷キャンパス(東京都)

Y. Tsukada, T. Shimowada, N. Ohnishi, A. Kuhara, and I. Mori. Dissecting information processing during search behavior: quantitative approach for thermotaxis of *C. elegans*
第35回日本神経科学大会 2012年09月18日~2012年09月21日 名古屋国際会議場(愛知県)

塚田 祐基、森 郁恵 確率的な行動を制御する神経回路機構の解明へ向けた定量的アプローチ 日本分子生物学会年会(招待講演)2012年12月11日~2012年12月14日 福岡国際会議場(福岡県)

[図書](計 1 件)

Tsukada, Y., Mori, I. "Behavioral Analysis in *Caenorhabditis elegans*" *Methods in Neuroethological Research*, Springer (2013) pp.3-14

6. 研究組織

(1)研究代表者

塚田 祐基 (TSUKADA, Yuki)

名古屋大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号: 80580000