

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25640010

研究課題名(和文) ショウジョウバエ聴覚系を用いた新規短期記憶モデルの開発と応用

研究課題名(英文) Auditory system of flies as a new model to study the short-term memory

研究代表者

上川内 あづさ (Kamikouchi, Azusa)

名古屋大学・理学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00525264

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ショウジョウバエの聴覚行動実験を大規模に進めるため、画像解析を利用して行動結果を自動で解析できるソフトウェアChalNを開発し、公開した。これを利用して、異なる音への応答行動を定量化した結果、連続音と断続音との切り替わり時に、行動変化が瞬時に起こることがわかった。この瞬時の行動切り替えは、短期記憶の変異体として知られるアデニル酸シクラーゼ欠損個体でも観察された。よって、音の違いを判別する神経機構はアデニル酸シクラーゼに依存しないことが示された。以上、本研究により、音の差を識別する神経機構を解析する優れた実験モデルとして、ショウジョウバエ聴覚系を用いた短期記憶モデルを新たに確立することができた。

研究成果の概要(英文)：To start a high-throughput analysis of the acoustic behavior of fruit flies, we developed an automatic system 'ChalN', to quantify the typical acoustic behavior of flies using machine-vision. By using this ChalN software, we analyzed the acoustic behavior in response to sound of different patterns and found that the flies changed their response behavior immediately after the sound shift. This behavioral change was observed even in a memory mutant strain that lacks the rutabaga adenylyl cyclase gene, showing that the neural mechanism that discriminates sound patterns is independent of this gene. This project established a novel method to explore the neural mechanism how the brain discriminates different temporal pattern of acoustic stimuli.

研究分野：神経科学

キーワード：聴覚 音識別

1. 研究開始当初の背景

私たち人を含めた多くの動物は、短時間の音列を記憶して、音の変化を感じ取ることができる。このような音の変化を脳が検出するには、「時間要素を含む短期記憶」を成立させる必要が有ることが予想される。しかし私たちの脳がどのようにして、直前まで聞いていた音を現在の音と照らし合わせてその違いを検出するのか、その神経機構はよくわかっていない。

キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*、以下、ショウジョウバエと略記する) はその小規模な脳と神経機能制御ツール群の充実により、現在の脳科学研究における重要なモデル動物の一つである。本研究者はこれまで、聴覚情報処理機構を解明するための小規模実験モデルとして独自にショウジョウバエ聴覚系に着目して研究を進めてきた。その過程で、ショウジョウバエは「音パターンの配列」を数秒にわたる時間スケールで記憶してその同一性を判断していることを示唆する結果を得た。そこで本研究計画ではこの現象を詳細に解析することで、刺激の「変化」を含んだ短期記憶が成立する神経基盤を解明するための優れた新規実験モデルを確立することを目指した。

2. 研究の目的

音の変化を脳が検出するには、「時間要素を含む短期記憶」を成立させる必要が有る。そのような音の短期記憶を担う神経回路機構や分子機構を理解する目的で、ショウジョウバエが示す音への慣れとその解除を担う神経機構を解明する。

3. 研究の方法

本研究者はこれまで、ショウジョウバエの雄が発する「求愛歌」と呼ばれる羽音を模した人工パルス音を用いた聴覚行動実験系の整備を進めてきた。これは、ショウジョウバエのオスが示す、求愛歌など特定の音刺激に呼応した求愛行動を定量的に測定する、という方法である。ショウジョウバエのオスは、求愛歌など特定の音刺激に呼応して求愛行動を活性化させることが知られている。この求愛行動は、個体同士が鎖状に連なって追いかかけ合う、といういわゆる「チェーン行動」として観察できる。本研究では、このチェーン行動を定量評価することで、多様な時間パターンを持つ人工音を複数組み合わせた音刺激に対する応答行動を解析する。これにより、ショウジョウバエが音の違いをどのような時間スケールで識別するかを解明する。さらに、短期記憶を担う遺伝子を欠損した変異体個体で同様の解析をすることで、音情報の短期記憶を担う分子機構を解明する。

4. 研究成果

ショウジョウバエの聴覚行動実験を効率的に進めるため、画像解析の手法を利用して行

動結果を自動で解析できるソフトウェア ChaIN を開発し、公開した。このソフトウェアを使うと、行動実験容器内の各個体の位置座標と頭部の向きを画像解析により判定することで、音刺激に対する応答行動(チェーン行動)を自動で定量化することができる(図1)。これまで目視で行っていた解析結果と比較して、同程度の精度で判定が行えるようにパラメータを最適化した。このソフトウェアの完成により初めて、ショウジョウバエの聴覚行動実験を長時間実施できるようになった。

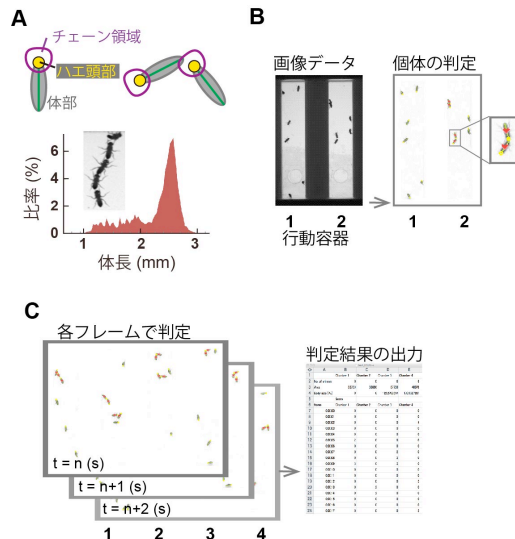


図1 ショウジョウバエ聴覚行動の自動検出。(A) 独自に開発したソフトウェア ChaIN (Chain Index Numerator) を使うと、画像データからショウジョウバエの個体の位置と頭部の向きを高精度で判定できる。(B, C) これを利用して、動画を連続画像として解析し、判定結果を出力することで、聴覚行動解析を効率的に行える。Yoon et al, 2013 より改変。

このソフトウェアを利用して、連続音から断続音への切り替えや、断続音から連続音への切り替えを行った際に、ショウジョウバエが示す応答行動がどのように変化するかを体系的に定量解析した。その結果、ショウジョウバエは音の変化を瞬時に認識し、行動変化を起こすことを発見した(図2)。以上の結果により、ショウジョウバエは、秒単位での音の違いを判別し、行動制御に反映させていることが初めて示された。

次に、音変化を受けた瞬時の行動切り替えを担う分子機構を解明する目的で、短期記憶の変異体として知られるアデニル酸シクラーゼ欠損個体の聴覚行動を解析した。先程と同様に、連続音から断続音への切り替え、さらに断続音から連続音への切り替えを行い、それに応じた聴覚行動を解析した。その結果、連続音から断続音へ切り替えた際の行動変化は、変異体個体でも観察された(図3)。

よって、音の違いを判別する神経機構はアデニル酸シクラーゼに依存しないことが示された。一方で、断続音から連続音への切り替え時には、変異体個体での行動変化は検出されなかった。音刺激に依存した行動変化そのものには、アデニル酸シクラーゼに依存した経路が含まれると推察される。

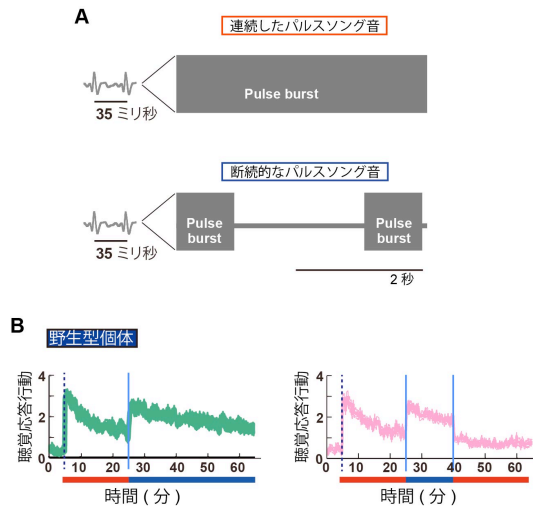


図2 ショウジョウバエは音の変化を検出できる。(A) ショウジョウバエ求愛歌に似せた人工音を基に、連続音と断続音を作成した。(B) ショウジョウバエの聴覚行動の変化。動画撮影開始5分後から連続音(赤色下線)を再生した。途中で断続音(青色下線)に切り替えると、行動量が瞬時に変化した。縦の点線は音開始時刻、水色の縦線は音の切り替え時刻を示す。Yoon et al, 2013 より改変。

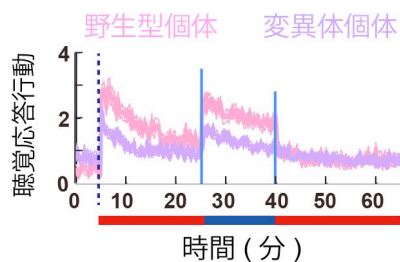


図3 アデニル酸シクラーゼ変異体の聴覚行動の変化。変異体個体(紫色)も、野生型個体(ピンク色)と同様に、音の切り替え時に行動が回復した。縦の点線は音開始時刻、水色の縦線は音の切り替え時刻を示す。Yoon et al, 2013 より改変。

以上、本研究により、刺激の「時間的変化」を含んだ短期記憶が成立する神経基盤を解明するための優れた新規実験モデルを確立することができた。今後はこのショウジョウバエ聴覚行動を利用した実験モデルを駆使して様々な遺伝子変異体や神経回路の改変個体の解析を進めることで、「時間要素を含む短期記憶」を介して音の変化を検出するよ

うな神経機構の解明が進むと期待される。

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6件、全て査読あり)

1. Organization of projection neurons and local neurons of the primary auditory center in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. Matsuo E, Seki H, Asai T, Morimoto T, Miyakawa H, Ito K, Kamikouchi A. The Journal of comparative neurology 524(6) 1099-1164. 2016年4月
2. Auditory system of fruit flies. Ishikawa Y, Kamikouchi A. Hearing research. 2015年11月
3. The Nutrient-Responsive Hormone CChamide-2 Controls Growth by Regulating Insulin-like Peptides in the Brain of *Drosophila melanogaster*. Sano H, Nakamura A, Texada MJ, Truman JW, Ishimoto H, Kamikouchi A, Nibu Y, Kume K, Ida T, Kojima M. PLoS genetics 11(5) e1005209. 2015年5月
4. Identification of novel vibration- and deflection-sensitive neuronal subgroups in Johnston's organ of the fruit fly. Matsuo E, Yamada D, Ishikawa Y, Asai T, Ishimoto H, Kamikouchi A. Frontiers in physiology 5 179 2014年
5. Selectivity and plasticity in a sound-evoked male-male interaction in *Drosophila*. Yoon J, Matsuo E, Yamada D, Mizuno H, Morimoto T, Miyakawa H, Kinoshita S, Ishimoto H, Kamikouchi A. PloS one 8 e74289 2013年
6. Auditory neuroscience in fruit flies. Kamikouchi A. Neuroscience research 76(3) 113-118 2013年7月

[学会発表] (計41件)

1. Eriko Matsuo, Haruyoshi Seki, Tomonori Asai, Takako Morimoto, Hiroyoshi Miyakawa, Kei Ito, Azusa Kamikouchi. Auditory map in the central nervous system of *Drosophila*. 2nd Asia-Pacific Pacific *Drosophila* Research Conference (APDRC) ソウル H25. 5/13-16
2. Daichi Yamada, Eriko Matsuo, Azusa Kamikouchi. Elucidation of the response characteristics of auditory nerve cells in the *Drosophila* brain. Neuro2013. 京都. H25. 6/20-23
3. Jeonghyeon Yoon, Eriko Matsuo, Daichi Yamada, Hiroshi Mizuno, Takako

- Morimoto, Hiroyoshi Miyakawa, Setsuo Kinoshita, Hiroshi Ishimoto, Azusa Kamikouchi. Systematic analysis of a sound-evoked male-male interaction in *Drosophila*. JSCPB2013 姫路 H25. 7/13-15
4. 上川内あづさ ショウジョウバエ聴覚行動の嗜好性とその分子基盤. 第六回分子高次機能研究会 軽井沢. H25. 9/17-19
 5. Yoshiko Kondo, Hiroshi Ishimoto, Azusa Kamikouchi. The dopaminergic regulation of female courtship decision making via the auditory system in *Drosophila melanogaster*. 神経回路合同研究会 名古屋大学 H25. 9
 6. 石元広志, 近藤佳子, 上川内あづさ. 生殖行動意思決定における高次脳情報処理機構の解明. 科学三昧 in あいち 2013 岡崎コンファレンスセンター H25. 12
 7. Yuki Ishikawa, Azusa Kamikouchi, Daisuke Yamamoto. Neuronal Mechanisms Underlying Species Specificity of Mating Preference. 11th Japanese *Drosophila* Research Conference 金沢 2014. 06. 04
 8. 石川由希, 上川内あづさ, 山元大輔. 異性に対する「好み」の進化をもたらす神経基盤の解明 第16回日本進化学会. 大阪. 2014. 08. 22
 9. Yuki ISHIKAWA, Yusuke YONEYAMA, Azusa KAMIKOUCHI. Species Specificity of Male Auditory Response in *Drosophila*. Neurofly2014. クレタ島. 2014. 10. 08
 10. Azusa Kamikouchi, Nao Morimoto, Hiroshi Ishimoto. The temporal pattern of pulse bursts modifies the level of suppression in a sound-evoked chaining behavior of fruit flies. 11th Japanese *Drosophila* Research Conference. 金沢 2014. 06. 04
 11. Natsuki Okamoto, Yuki Ishikawa, Azusa Kamikouchi. Functional analysis for the chaining behavior of the IR84a-expressing olfactory sensory neurons. 11th Japanese *Drosophila* Research Conference. 金沢. 2014. 06. 04
 12. Eriko Matsuo, Haruyoshi Seki, Tomonori Asai, Takako Morimoto, Hiroyoshi Miyakawa, Kei Ito, Azusa Kamikouchi. The auditory circuit in the central nervous system of *Drosophila*. 11th Japanese *Drosophila* Research Conference. 金沢 . 2014. 06. 04
 13. Daichi Yamada, Eriko Matsuo, Azusa Kamikouchi. The pattern of antennal movement is spatially represented in the brain of fruit flies. International Congress of Neuroethology. 札幌. 2014. 07. 29
 14. Eriko Matsuo, Daichi Yamada, Azusa Kamikouchi. A spatial representation of the pattern of antennal movement in the fruit-fly brain. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society 横浜 2014. 09. 12
 15. Daichi Yamada, Eriko Matsuo, Yuki Ishikawa, Hiroshi Ishimoto, Azusa Kamikouchi. Identification of a novel vibration and deflection center in the brain of the fruit fly. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. 横浜 . 2014. 09. 12
 16. Eriko Matsuo, Haruyoshi Seki, Takako Morimoto, Kei Ito, Azusa Kamikouchi. Auditory Neural Circuit in the Fly Brain. Neurofly2014. クレタ島 . 2014. 10. 08
 17. Daichi Yamada, Eriko Matsuo, Yuki Ishikawa, Hiroshi Ishimoto, Azusa Kamikouchi. Ca²⁺ imaging analysis of the auditory neurons in the fly brain. Neurofly2014. クレタ島. 2014. 10. 08
 18. Azusa Kamikouchi. Neuronal encoding of sound and gravity in the fruit fly. 2015 ARO Midwinter Meeting Baltimore 2015. 02. 21
 19. Azusa Kamikouchi. The organization of auditory neural circuits in the fruit-fly brain. 第88回日本薬理学会年会. 名古屋. 2015. 03. 20
 20. 上川内あづさ. ハエの「求愛歌」がコードする情報を脳はどのように読み解くのか? 生命情報科学若手の会 理研 CDB 2014. 10. 29
 21. Hiroshi Ishimoto, Yoshiko Kondo, Azusa Kamikouchi. Dopaminergic regulation of female courtship decision-making. 11th Japanese *Drosophila* Research Conference. 金沢. 2014. 06. 04
 22. Nao Morimoto, Azusa Kamikouchi. Plasticity in the auditory behavior of the fruit fly. International Congress of Neuroethology. 札幌. 2014. 07. 29
 23. Xiaodong Li, Hiroshi Ishimoto, Azusa Kamikouchi. Auditory plasticity induced by long-term sound exposure in *Drosophila*. Systems Neurobiology Spring School 2015. 京都 2015. 3. 6
 24. 上川内あづさ. Auditory neural pathways in the fly brain. 3rd

- Asia-Pacific *Drosophila* Research Conference (APDRC) "Beijing, China" 2015.05.14
25. 上川内あづさ. ショウジョウバエ聴覚系の神経回路ーショウジョウバエを使った研究から聴覚システムの動作原理を探るー. 聴覚研究会. 豊橋技術科学大学 2015.05.29
 26. N. Morimoto, A. Kamikouchi. Plasticity in the auditory behavior of fruit flies. Modulation of Neural Circuits & Behavior The Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong. 2015.06.23
 27. H. Ishimoto, Y. Kondo, A. Kamikouchi. Central brain neurons regulate female courtship receptivity. 第38回日本神経科学大会. 神戸. 2015.07.28
 28. Y. Ishikawa, N. Okamoto, A. Kamikouchi. The establishment of behavioral analysis for auditory response of single fruit flies; SMART (Single Male Auditory Response Test). 第38回日本神経科学大会 神戸. 2015.07.29
 29. N. Morimoto, A. Kamikouchi. Plasticity in the auditory behavior of the fruit flies. 第8回分子高次機能研究会. 金沢. 2015.08.18
 30. 石川由希, 上川内あづさ, 山元大輔. 異性への「好み」の急速な進化をもたらす神経基盤 日本進化学会第17回大会中央大学後楽園キャンパス 2015.08.20
 31. 上川内あづさ. ショウジョウバエを用いた聴覚神経回路の理解 第27回高遠・分子細胞生物学シンポジウム延暦寺会館 2015.08.26
 32. 石川由希, 上川内あづさ, 山元大輔. 異性への「好み」の進化の神経基盤 第27回高遠・分子細胞生物学シンポジウム延暦寺会館 2015.08.26
 33. 上川内あづさ. ハエにおける音脈分擬 第3回神経回路合同研究会 名古屋大学理学部. 2015.09.11
 34. 上川内あづさ. The central auditory pathways of fruit flies H27年度新学術領域研究国際シンポジウム京都大学芝蘭会館稲盛ホール 2015.11.06
 35. N. Morimoto, A. Kamikouchi. Plasticity in the auditory behavior of fruit flies. 2016 Association for Research in Otolaryngology MidWinter Meeting. サンディエゴ, U S A. 2016.02.20

他6件

[図書] (計6件)

1. Eberl DF, Kamikouchi A, Albert JT. Auditory Transduction. In: Insect

hearing (Eds: Pollack GS, Mason AC, Popper AN, Fay RR). Series: Springer Handbook of Auditory Research, Vol. 55, In press.

2. Kamikouchi A, Ishikawa Y. Hearing in *Drosophila*. In: Insect hearing (Eds: Pollack GS, Mason AC, Popper AN, Fay RR). Series: Springer Handbook of Auditory Research, Vol. 55, In press.
3. 石元広志, 上川内あづさ 「音への応答行動を測る 求愛歌は効果あり? ショウジョウバエの聴覚テスト: オスの求愛行動を利用した実験」 In: 研究者が教える動物実験 (日本比較生理生化学会編) 2015.
4. 松尾恵倫子, 上川内あづさ 「重力への応答行動を測る ショウジョウバエは上に逃げる? ショウジョウバエを使った反重力走性の測定: 上方向に移動する割合を決定する」 In: 研究者が教える動物実験 (日本比較生理生化学会編) 2015.
5. 動物行動の分子生物学 (新・生命科学シリーズ) 久保 健雄, 上川内 あづさ, 竹内 秀明, 奥山 輝大 裳華房 2014年7月 ISBN:4785358580
6. Methods in Neuroethological Research. Kamikouchi A, Fiala A. Springer Japan. 2013年7月 ISBN:978-4431543305

[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]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上川内あづさ (Kamikouchi, Azusa)
名古屋大学大学院・理学研究科・教授
研究者番号: 00525264