

平成22年 5月 20日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2006～2009
 課題番号：18370004
 研究課題名（和文） 線虫の神経回路における情報処理機構 - 多面的なアプローチによる分子遺伝学的研究 -
 研究課題名（英文） Mechanisms of Sensory Processing in *C. elegans* Neuronal Circuits.

研究代表者
 石原 健（ISHIHARA TAKESHI）
 九州大学・大学院理学研究院・教授
 研究者番号：10249948

研究成果の概要（和文）：

動物は、環境からの様々な情報を感覚ニューロンで受容し、そのような情報を中枢神経で適切に処理することによって、行動している。本研究においては、線虫 *C. elegans* をモデルとして、このような情報処理の制御メカニズムの解析を進めた。線虫は、感覚情報の統合に関わるシグナル分子を同定するとともに、それが働く神経回路を同定した。また、記憶の保持時間を制御するメカニズムを明らかにするため、記憶を長く保持する変異体を同定し、記憶の保持に関わるシグナル経路を同定した。我々は、生殖細胞が嗅覚応答に影響を与えることをみつけ、その現象に基づき変異体を同定した。さらに、行動可塑性と嗅覚応答に関わるシグナル経路の働きを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Animals sense variety of environmental stimuli in sensory neurons, simultaneously. This sensory information is processed in central nervous systems to regulate their behavior. In this study, we investigated mechanisms of the sensory processing by using *C. elegans* as a model organism. We identified signaling pathways to regulate the sensory integration and neuronal circuits where those pathways function. To elucidate the regulation of the memory retention, we isolated mutants showing longer memory retention and thereby identified a signaling pathway that regulates the memory retention. We found that the germline signals regulate the olfactory response. By using this phenomenon, we isolated a mutant defective in the regulation. In addition, we elucidated the function of signaling pathways for the olfactory sensation and behavioral plasticity.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	6,200,000	0	6,200,000
2007年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2008年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2009年度	2,900,000	870,000	3,770,000
年度			
総計	14,900,000	2,610,000	17,510,000

研究分野：生物学

科費賞の分科・細目：基礎生物学・遺伝・ゲノム動態

キーワード：行動遺伝学・学習・神経回路・情報処理・線虫

1. 研究開始当初の背景

動物は、刻々と変化する環境に対して適切に応答することが必要である。このような環境適応のために、感覚細胞を通じて受容した環境からの様々な情報を、神経回路において適切に処理し、環境に応じた行動をとったり、体のホメオスタシスを制御したりしている。このような感覚情報処理システムは、単純な神経系を持つ生物でも生存や子孫を残すために必須である。申請者は、感覚情報処理のメカニズムを明らかにするためには、分子から個体までの様々な研究を組み合わせる必要があると考えている。線虫 *C.elegans* は、神経回路の全構造が明らかにされているほか、行動測定も容易で、遺伝学的な解析も適用でき、神経回路における情報処理機構について、分子・神経細胞・神経回路・個体のそれぞれのレベルを結びつけて解析するのに適している。

本研究においては、これまでその詳細なメカニズムがほとんど分かっていない、感覚情報の統合と記憶の保持時間の制御とを中心に、情報処理の分子メカニズムと神経回路メカニズムとを明らかにすることを旨とした。

2. 研究の目的

- (1) 感覚情報の統合と連合学習の制御を担うシグナル伝達系を同定し、それが働く神経回路を明らかにする。
- (2) 記憶の保持に着目して、記憶の保持時間を制御するメカニズムを明らかにする。
- (3) 嗅覚順応における Ras-MAPK 経路の働きを、介在ニューロンの働きや MAPK が制御する下流因子に着目して明らかにする。
- (4) 体内環境に基づき神経機能を制御するメカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

本研究においては、線虫 *C. elegans* を用いた行動遺伝学的手法を用いて研究を進めた。

- (1) 感覚情報の統合に異常を示す変異体を、トランスポゾン挿入変異体として同定した。その挿入位置の解析から原因遺伝子を同定するとともに、その遺伝子産物が働くメカニズムを解析した。
- (2) 記憶の保持時間が異なる変異体を、3種類の行動可塑性を用いて同定した。その原因遺伝子をポジショナルクローニングによ

て同定するとともに、その遺伝子産物が関わるシグナル経路について行動遺伝学的な解析を行った。

(3) 生殖腺が匂い物質に対する応答に与える影響を解析するため、レーザー照射により生殖腺が失われた線虫の行動を解析するとともに、生殖腺が失われた変異体を用いて嗅覚応答の変異体のスクリーニングを行った。

(4) 中枢性の嗅覚順応である早期嗅覚順応について、Ras-MAPK 経路の下流因子を生化学的に解析した。

4. 研究成果

(1) 線虫は、ジアセチルに誘引行動を示すのに対し、銅イオンに対し忌避行動を示す。本研究では、この二つの感覚刺激を同時に受容したときの行動を測定することによって、どちらの応答を優先するかを測定することによって、感覚情報の統合を解析した(図1)。

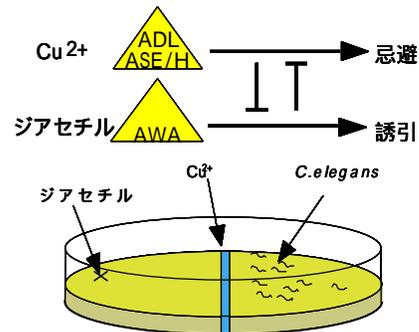


図1. 感覚情報の統合の行動測定系

この行動測定系により単離した変異体について、原因遺伝子が膜貫通型グアニル酸シクラーゼをコードしていることを明らかにした。この変異体は、連合学習の一つと考えられる塩走性学習にも異常を示す。このグアニル酸シクラーゼは、これまでに情報の統合や連合学習を制御することを明らかにした分泌タンパク質 HEN-1 やその受容体と考えられるチロシンキナーゼとは異なる経路で働いていることを遺伝学的に示した。さらに、グアニル酸シクラーゼの選択的スプライシングにより生ずる4つのサブタイプのうち、細胞外のリガンド結合ドメインが異なるDサブタイプが感覚情報の統合を単一の介在ニューロンで制御していることを遺伝学的

に明らかにした。また、この介在ニューロンにおいて、これらのシグナル経路の下流で働く因子として、イオンチャンネルとタンパク質キナーゼを同定した。これらの因子は、シナプス伝達の制御に関わっていると考えられる。

(2) 単純な学習と考えられる嗅覚順応と連合学習の一つと考えられる塩走性学習とを用いて、記憶の保持時間が長い変異体を同定した。これらの変異体は、相補性検定により同一遺伝子の変異であることがわかった(図2)。

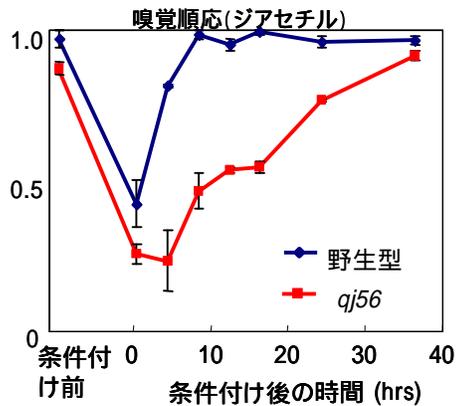


図2. 記憶の保持時間が長い変異体 (qj56)

この変異体では、異なる感覚ニューロンにおける嗅覚順応や介在ニューロンを介した早期嗅覚順応などの記憶も長く保持されることから、異なるメカニズムで形成される記憶の保持を同一の分子が制御していることが明らかになった。この変異体の原因遺伝子を同定することによって、記憶の保持時間の制御に関わるシグナル経路を同定した。

連合学習の一種と考えられるブタノンエンハンスメントと呼ばれる行動可塑性についても、記憶の保持時間が異なっている変異体のスクリーニングを行い、その染色体上の位置を決定した。

(3) 早期嗅覚順応は、異なる感覚ニューロンで受容される匂い物質間の嗅覚順応であり、介在ニューロンにおける Ras-MAPK 経路の働きが必須である。MAP キナーゼの下流因子を探索し、イオンチャンネル型受容体を制御していることが示唆された。また、この受容体に対する特異的な抗体を作成し、免疫染色することによって、イオンチャンネル型受容体の挙動の変化を明らかにした。

(4) 動物は、様々な体内環境に基づき、感覚応答を変化させていることが知られている。生殖細胞の有無が感覚応答に与えている影響を明らかにするために、線虫の生殖細胞をレーザーで破壊し、その成虫における行動を解析したところ、特定の匂い物質に対する応答だけが低くなっていることを見いだした。そこで、生殖細胞がない変異体を用いて、生殖

細胞の有無によって匂い物質の応答が変わらない変異体のスクリーニングを行い、変異体を同定した。その変異体の原因遺伝子を染色体上の位置を決定した。

(5) 双極性障害の治療においては、炭酸リチウムが用いられることが多いが、その作用機序はほとんど明らかになっていない。リチウムイオンが生体に及ぼす影響を解析するため、線虫において、リチウムイオンに対する耐性変異体を単離した。この変異体のうち1株について、ポジショナルクローニングにより原因遺伝子を同定したところ、高等動物でも保存されているイオンチャンネルがリチウム耐性に関わっていることが、明らかになった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計8件)

- Behavioural assay for olfactory plasticity in *C. elegans*. Hirotsu T., Hayashi Y., Iwata R., Kunitomo H., Kage-Nakadai E., Kubo T., Ishihara T. and Iino Y. Nature Protocols, 139 (2009) 査読無
- A trophic role for Wnt-Ror kinase signaling during developmental pruning in *Caenorhabditis elegans*. Hayashi Y., Hirotsu T., Iwata R., Kage-Nakadai E., Kunitomo H., Ishihara T., Iino Y. and Kubo T. Nature Neuroscience, 12, 981-987 Epub 2009 Jun 28 (2009) 査読有
- FLR-2, the glycoprotein hormone alpha subunit, is involved in the neural control of intestinal functions in *Caenorhabditis elegans*. Oishi A., Gengyo-Ando K., Mitani S., Mohri-Shiomi A., Kimura K.D., Ishihara T., Katsura I. Genes to Cells, 14, 1141-54 (2009) 査読有
- ADBP-1 regulates an ADAR RNA-editing enzyme to antagonize RNAi-mediated gene silencing in *C. elegans*. Ohta, H., Fujiwara, M., Ohshima, Y. and Ishihara, T. Genetics, 180, 785-796 (2008) 査読有
- Left-right olfactory asymmetry results from antagonistic functions of voltage-activated calcium channels and the Raw repeat protein OLRN-1 in *C. elegans*. Bauer Huang, S.L., Saheki, Y., Vanhoven, M.K., Torayama, I., Ishihara, T., Katsura, I., van der Linden, A., Sengupta, P. and Bargmann, C.I. Neural Development, 2, 24 (PMID17986337) (2007. 11) 査読有

6. A Genome-wide Survey and Systematic RNAi-based Characterization of Helicase-like Genes in *Caenorhabditis elegans*
Eki, T., Ishihara, T., Katsura, I. & Hanaoka, F. DNA Research, 14, 183-199 (2007) 査読有
7. *Caenorhabditis elegans* integrates the signals of butanone and food to enhance chemotaxis to butanone.
Torayama, I., Ishihara, T. and Katsura, I. Journal of Neuroscience, 27, 741-750(2007). 査読有
8. IFT-81 and IFT74 are required for intraflagellar transport in *C. elegans*.
Kobayashi, T., Gengyo-Ando, K., Ishihara, T., Katsura, I. and Mitani, S. Genes To Cells, 12, 593-602 (2007). 査読有

〔学会発表〕(計4件)

1. Shinkai, Y. and Ishihara, T.
MOLECULAR ANALYSES OF THE INTEGRATION OF TWO SENSORY SIGNALS IN *C. ELEGANS*
2010 Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Neuronal Circuits
2010/3/10 Cold Spring Harbor U.S.A.
2. Fujiwara, M., Sato, N., Maruyama, S., Akamine, T. and Ishihara, T.
Chemotactic control by a germline signal in *C. elegans*
17th International C.elegans Meeting
Los Angeles U.S.A. 2009/6/24-6/28
3. Shinkai, Y. and Ishihara, T.
Molecular analysis of the integration of two sensory signals in *C. elegans*
17th International C.elegans Meeting
Los Angeles U.S.A. 2009/6/24-6/28
4. 石原 健,
線虫における感覚情報処理の分子機構
Molecular mechanisms of sensory processing in *C. elegans* 第31回日本神経科学大会 東京 2008.7/9-7/11
5. Shinkai, Y., Tsunozaki, M., Bargmann, C. and Ishihara, T.
Molecular Mechanisms Of The Integration Of Two Sensory Signals In *C. elegans*. NEURONAL DEVELOPMENT, SYNAPTIC FUNCTION & BEHAVIOR
C. elegans Topic Meeting #2, Madison, U.S.A. 2008.6/29-7/2
6. 新海陽一、石原 健
Molecular mechanisms regulating the sensory integration process in *C. elegans* 第30回日本分子生物学会年

会・第80回日本生化学会大会 横浜 2007年12月11-15日

7. Inoue, A. and Ishihara, T.
Genetic analyses of mechanism for memory erasing in *Caenorhabditis elegans*. 16th International C.elegans meeting. Los Angeles, U.S.A. 2007.6/27-7/1
8. Shinkai, Y. and Ishihara, T.
Genetic analysis of the sensory integration process in the neuronal circuit. 16th International C.elegans meeting Los Angeles, U.S.A. 2007.6/27-7/1

〔図書〕(計2件)

1. 線虫 *C. elegans* の行動可塑性 石原 健
羊土社 「脳機能研究の新展開」 実験医学増刊 (2006) 130-136
2. 線虫 *C. elegans* における連合学習のメカニズム 石原 健 共立出版 蛋白質核酸酵素増刊 「神経の分化, 回路形成, 機能発現」(2007) 587-593

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.biology.kyushu-u.ac.jp/~bunsiide/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石原 健 (ISHIHARA TAKESHI)
九州大学・大学院理学研究院・教授
研究者番号: 10249948

(2) 研究分担者

古賀 誠人 (KOGA MAKOTO)
九州大学・大学院理学研究院・准教授
研究者番号: 60243888
藤原 学 (FUJIWARA MANABI)
九州大学・大学院理学研究院・助教
研究者番号: 70359933
広津 崇亮 (HIROTSU TAKAAKI)
九州大学・大学院理学研究院・助教
研究者番号: 70404035