

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02488

研究課題名(和文) 異性への好みの進化をもたらす神経分子基盤

研究課題名(英文) Neural basis for evolution of mating preference

研究代表者

石川 由希 (Ishikawa, Yuki)

名古屋大学・理学研究科・講師

研究者番号：70722940

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、配偶者選好性の進化の神経基盤を解き明かすために、キイロショウジョウバエとオナジショウジョウバエの求愛歌に対する選好性に着目し、その種間差の神経基盤を解明することを目的とした。本研究は、2種の聴覚1-3次ニューロン群と求愛コマンドニューロンの形態的特徴が種間でよく保存されていることを明らかにした。また、聴覚1, 2次ニューロンの神経活動のパルス間隔選好性を種間比較し、2次ニューロンの応答性に僅かな種間差が存在することを示した。このことから、聴覚情報処理の種間差はすでに2次ニューロンの神経活動レベルにおいて存在していることが初めて示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、同種を交配相手として選択するための情報処理を行う神経機構が、どのように種間で分化してきたのかを解明することを目的とした。本研究によって、情報処理のかなり早い段階を担う神経機構においても、種間の分化が存在していることが初めて明らかになった。

研究成果の概要(英文)：To unravel the neural basis of the evolution of mate preference, we aimed to elucidate the neural basis of the interspecific differences in the preference for courtship songs in *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. We found that the morphological characteristics of the 1st, 2nd, and 3rd order neurons and courtship command neurons are well conserved between the two species. We also compared the song preference of the neural activity of auditory 1st and 2nd order neurons between species and showed that there are slight interspecific differences in the neural response of 2nd order neurons. The results show that the interspecies differences in auditory information processing already exist at the level of neural activity of second-order neurons.

研究分野：進化生物学

キーワード：ショウジョウバエ 求愛歌 行動進化 聴覚

1. 研究開始当初の背景

配偶者選好性は、種分化の過程で迅速に分化し、性選択や生殖隔離を介して生物の形質進化を方向づける。動物の配偶者選好性は神経ネットワークにコードされているが、どのような神経ネットワークの改変がこの配偶者選好性の進化をもたらすのかは明らかになっていない。

モデル生物であるキイロショウジョウバエとその近縁種は、求愛歌によって配偶者を選択する。この求愛歌に対する選好性は近縁種間で分化しており、バエはそれぞれ同種の歌に選択的に応答する。本研究では、この求愛歌選好性の進化がどのような神経ネットワークの変化によって実現されるかを解明するため、求愛歌の情報を処理する聴覚神経ネットワークの生理学/形態学的性質を近縁種間で比較し、求愛歌選好性の進化をもたらすニューロン群の変化を特定する。

2. 研究の目的

本研究は、モデル生物であるキイロショウジョウバエ（以下、キイロ）と姉妹種オナジショウジョウバエ（以下、オナジ）の求愛歌に対する選好性に着目し、その選好性の進化がどのような神経ネットワークの変化によって実現されるのかを解明することを目的とする。

3. 研究の方法

キイロとオナジの求愛歌に対する選好性を定量比較した。同種の求愛歌はメスの交尾受容性を高める。これを利用してキイロとオナジの求愛歌選好性を定量した。翅を切除した（求愛歌を自身で歌えない）オスとメスを求愛チャンバーに入れ、人工的に合成したパルス歌（求愛歌の一部）を与えた。与えるパルス歌のパルス間隔を操作することで、メスの交尾受容性がどのように変化するかを調べ、パルス間隔に対する選好性を定量した。

キイロにおいては、聴覚1次ニューロン群やこれに接続する聴覚2, 3次ニューロン群、またその下流にある求愛コマンドニューロン群からなる『聴覚神経ネットワーク』が求愛歌の情報処理に寄与することが知られている。この聴覚神経ネットワークにおける何らかの変化が求愛歌選好性の進化に寄与したという仮説を検証するため、オナジにおいて聴覚1-3次ニューロン群を標識するGAL4システムを確立した。キイロの聴覚1-3次ニューロン群と求愛コマンドニューロンを標識するエンハンサー配列とコアプロモーターを上流にもつGAL4コンストラクトを、C31システムを用いてオナジに導入した。

聴覚1-3次ニューロン群と求愛コマンドニューロンの形態学的性質の比較のために、GAL4-UASシステムを用いて各ニューロン群にGFPを発現させ、共焦点顕微鏡によって3D画像を得た。CMTKツールを用いて標準脳にマップし、投射パターンを比較した。

聴覚1, 2次ニューロン群と求愛コマンドニューロンの生理学的性質を比較するために、GAL4-UASシステムを用いて各ニューロン群にカルシウムセンサータンパク質GCaMPを発現させ、カルシウムイメージングを用いて人工パルス歌への応答を定量した。人工パルス歌を与えた際の各ニューロンの蛍光強度を解析することで、パルス間隔選好性を比較した。

4. 研究成果

キイロとオナジのパルス歌のパルス間隔は種間で異なり、前者は約35ms、後者は約55msであることが知られている。キイロとオナジがそれぞれ同種の求愛歌に対して選好性を示すかを行動レベルで定量するために、人工パルス歌を与えた際のメスの交尾受容性の上昇を種間で比較した。その結果、キイロはパルス間隔35msの歌で最もよく交尾を受け入れたのに対し、オナジではそれより長い55msや75msで最もよく交尾を受け入れた。このことから、オナジはキイロより長いパルス間隔に対して選好性を持つことが示された。

次に、聴覚神経ネットワークを構成する聴覚1~3次ニューロンとコマンドニューロンの形態に種間差があるかを検証するために、これらを標識するGAL4システムを確立/入手し、UAS-GFPと交配させた。GFPで標識されたニューロン群を観察すると、全ての系統においてキイロショウジョウバエで報告されているのと同様の形態を持つニューロン群が標識されていることがわかった。このことから、聴覚神経ネットワークを

構成するニューロン群の形態は種間でよく保存されていることがわかった。

これらのニューロンの生理学的特徴を比較するために、カルシウムイメージングを行った。聴覚1次、2次ニューロンを標識した系統では、各ニューロンが音刺激に反応することが確認できた。一方、聴覚3,4次ニューロンを標識する系統は標識強度が弱く、神経応答を検出することができなかった。そこで、聴覚2次ニューロンのパルス間隔選好性を種間比較すると、2種ともにさまざまな IPI の人工パルス歌による2次ニューロンの神経応答を計測できた。カルシウムレベルのピーク値を用いて神経活動量を比較すると、オナジの2次ニューロンがキイロよりも長い IPI に対して強く反応する傾向があることがわかった。このことから、聴覚情報処理の種間差はすでに2次ニューロンの神経活動レベルにおいて存在していることが初めて示された。この成果は、現在論文発表に向けて準備中である。

また、関連して、キイロにおける聴覚情報処理機構を解明する研究を並行して行い、以下の論文としてまとめた。

1. Hyunsoo Kim, Mihoko Horigome, Yuki Ishikawa, Feng Li, J. Scott Lauritzen, Gwyneth Card, Davi D. Bock, Azusa Kamikouchi (2020). Wiring patterns from auditory sensory neurons to the escape and song-relay pathways in fruit flies. JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY 528(12) 2068-2098
2. Yuki Ishikawa, Mao Fujiwara, Junlin Wong, Akari Ura, Azusa Kamikouchi (2020) Stereotyped Combination of Hearing and Wind/Gravity-Sensing Neurons in the Johnston's Organ of Drosophila. Frontiers in Physiology 10
3. Yuki Ishikawa, Natsuki Okamoto, Yusuke Yoneyama, Naoki Maeda, Azusa Kamikouchi (2019). A single male auditory response test to quantify auditory behavioral responses in Drosophila melanogaster. JOURNAL OF NEUROGENETICS 33(2) 64-74
4. Shuhei J Yamazaki, Kazuya Ohara, Kentaro Ito, Nobuo Kokubun, Takuma Kitanishi, Daisuke Takaichi, Yasufumi Yamada, Yosuke Ikejiri, Fumie Hiramatsu, Kosuke Fujita, Yuki Tanimoto, Akiko Yamazoe-Umemoto, Koichi Hashimoto, Katsufumi Sato, Ken Yoda, Akinori Takahashi, Yuki Ishikawa, Azusa Kamikouchi, Shizuko Hiryu, Takuya Maekawa, Koutarou D Kimura (2019). STEFTR: A Hybrid Versatile Method for State Estimation and Feature Extraction From the Trajectory of Animal Behavior. Frontiers in neuroscience 13 626-626
5. Daichi Yamada, Hiroshi Ishimoto, Xiaodong Li, Tsunehiko Kohashi, Yuki Ishikawa, Azusa Kamikouchi (2018). GABAergic Local Interneurons Shape Female Fruit Fly Response to Mating Songs. JOURNAL OF NEUROSCIENCE 38(18) 4329-4347

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ishikawa Y, Okamoto N, Yoneyama Y, Maeda N and Kamikouchi A.	4. 巻 33
2. 論文標題 A single male auditory response test to quantify auditory behavioral responses in <i>Drosophila melanogaster</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neurogenetics	6. 最初と最後の頁 64-74
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/01677063.2019.1611805	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kim Hyunsoo, Horigome Mihoko, Ishikawa Yuki, Li Feng, Lauritzen J. Scott, Card Gwyneth, Bock Davi D., Kamikouchi Azusa	4. 巻 528
2. 論文標題 Wiring patterns from auditory sensory neurons to the escape and song relay pathways in fruit flies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Comparative Neurology	6. 最初と最後の頁 2068 ~ 2098
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cne.24877	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ishikawa Yuki, Fujiwara Mao, Wong Junlin, Ura Akari, Kamikouchi Azusa	4. 巻 10
2. 論文標題 Stereotyped Combination of Hearing and Wind/Gravity-Sensing Neurons in the Johnston's Organ of <i>Drosophila</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 1552
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphys.2019.01552	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamada Daichi, Ishimoto Hiroshi, Li Xiaodong, Kohashi Tsunehiko, Ishikawa Yuki, Kamikouchi Azusa	4. 巻 38
2. 論文標題 GABAergic Local Interneurons Shape Female Fruit Fly Response to Mating Songs	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 4329 ~ 4347
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/JNEUROSCI.3644-17.2018	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大橋拓朗、石川由希、粟崎健、上川内あづさ
2. 発表標題 ショウジョウバエにおける種特異的なコミュニケーションを実現するシグナル認識機構の進化
3. 学会等名 日本進化学会第20回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石川 由希
2. 発表標題 ショウジョウバエが同種の求愛歌を識別するしくみ
3. 学会等名 第78回日本動物心理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takuro Ohashi, Yuki Ishikawa, Takeshi Awasaki and Azusa Kamikouchi
2. 発表標題 Search for auditory neurons that shape song selectivity in two Drosophila species
3. 学会等名 日本比較生理生化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takuro Ohashi, Yuki Ishikawa, Takeshi Awasaki, Matthew Su and Azusa Kamikouchi
2. 発表標題 Search for auditory neurons that shape song selectivity in two Drosophila species
3. 学会等名 0 日本比較生理生化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 (第4章著) 上川内あづさ、石川由希ノ(編著) 滋野修一、野村真、村上安則	4. 発行年 2018年
2. 出版社 一色出版	5. 総ページ数 520
3. 書名 遺伝子から解き明かす脳の不思議な世界「第4章 小型でハイスペックな脳の獲得 昆虫の脳」	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------