

| | |
|--------------|--|
| Title | Analysis of neuronal mechanisms for sensory behaviors in <i>Caenorhabditis elegans</i> using a robot microscope system |
| Author(s) | 谷本, 悠生 |
| Citation | 大阪大学, 2017, 博士論文 |
| Version Type | VoR |
| URL | https://doi.org/10.18910/67051 |
| rights | |
| Note | |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

| | |
|--|--|
| 氏 名 (谷 本 悠 生) | |
| 論文題名 | Analysis of neuronal mechanisms for sensory behaviors in <i>Caenorhabditis elegans</i> using a robot microscope system (新規ロボット顕微鏡システムによる線虫 <i>C. elegans</i> の感覚応答行動のための神経メカニズムの解析) |
| 論文内容の要旨 | |
| <p>動物の神経系は感覚入力を処理し、適切な応答行動として出力する。このときの神経系による情報処理を包括的に理解するためには、神経細胞の活動を自在に計測・制御できることが理想的である。このような目的のために近年、光を介して神経活動を計測・制御することができる光生理学と呼ばれる手法が開発され、広く用いられるようになった。光生理学的手法において、線虫<i>Caenorhabditis elegans</i>は最適な動物の一つである。<i>C. elegans</i>は、全神経回路情報が明らかでない唯一の動物であり、光学的計測に適した透明な身体を持ち、さらに遺伝学的手法を容易に用いることができる。そのため、個体レベルの神経機能を、細胞・分子レベルで理解することが可能である。</p> <p>本研究では、<i>C. elegans</i>において自由行動中の光生理学的解析が可能なロボット顕微鏡システムを新規に開発し、<i>C. elegans</i>の2つの感覚応答行動のための神経メカニズムを解明した。このシステムでは、自由行動中の<i>C. elegans</i>を電動ステージにより顕微鏡下で高速・高精度に自動追跡することで、複数の神経細胞からの神経活動を同時にカルシウムイメージング法により計測することができる。さらに、蛍光像の自動認識により個々の神経細胞の位置をリアルタイムで検出し、特定の細胞だけを狙って光刺激することで、神経活動を自在に操作することも可能である。このシステムの有効性を確認するために、私は<i>C. elegans</i>のドーパミン作動性細胞の餌刺激への応答性を解析した(第III章)。<i>C. elegans</i>のドーパミン作動性細胞は、これまでの分子遺伝学解析から機能的に重複していると考えられてきたが、本研究での光生理学的解析からこれらの細胞にも明確な機能分化が見られることが初めて明らかになった。</p> <p>さらに私は、このロボット顕微鏡システムにおいて定量的な匂い刺激を可能にすることで、<i>C. elegans</i>の匂い応答行動のための神経および分子基盤を解析した(第IV章)。当研究室における以前の研究から、<i>C. elegans</i>は匂い物質ノナンに対する忌避行動において、高い確率で正しい方向を選んで移動していることが見出されていた(Yamazoe, PhD Thesis, 2015)。この効率的な忌避行動を制御する神経メカニズムを解明するために、私は匂い忌避行動中に感じられる匂い濃度変化パターンをロボット顕微鏡下で再現し、それに対する行動と神経活動を計測した。その結果、単一の神経細胞が感覚情報を細胞内カルシウム濃度として時間積分することにより、正しい移動方向を慎重に評価していることが判明した。さらに、この時間積分的なカルシウム濃度上昇のパターンは、L型電位依存性カルシウムチャネルEGL-19が持続的なカルシウム流入を引き起こすことと生成されることも明らかになった。感覚情報の時間積分は高等動物の意思決定とも共通の情報処理戦略であるが、そのための積分的な神経活動は理論的な研究から再帰的神経回路によって生成されると考えられてきた。本研究による成果から、動物のシンプルな意思決定においては、感覚情報の時間積分演算を細胞内カルシウム動態が担うことが実験的に証明された。</p> <p>これらの研究を今回開発したロボット顕微鏡システムによってさらに発展させることで、<i>C. elegans</i>のシンプルな神経系における個体レベルの神経機能を、感覚刺激・神経活動・行動の定量的な連関として包括的に理解することが可能になると期待される。</p> | |

論文審査の結果の要旨及び担当者

| | |
|---|---------------------|
| 氏 名 (谷 本 悠 生) | |
| | (職) 氏 名 |
| 論文審査担当者 | 主 査 教 授 上 田 昌 宏 |
| | 副 査 教 授 古 川 貴 久 |
| | 副 査 准 教 授 木 村 幸 太 郎 |
| 論文審査の結果の要旨 | |
| <p>動物の感覚応答行動の基本的制御機構を明らかにするためには、シンプルな行動の解析が容易で、全神経回路網が解明されており、神経活動の光学的計測や遺伝学的解析に優れた線虫 <i>C. elegans</i> がモデルとして適している。しかし、これまでの多くの研究では行動と神経活動が別々に解析されていた。すなわち、行動は一定時間後の終点への到達率で、また神経活動は全か無かの刺激に対する応答が計測されており、感覚行動中に <i>C. elegans</i> が感ずるわずかな刺激変化がどのように処理されることで適切に行動に反映されるのか、という問題には答えられていなかった。</p> <p>本学位論文で申請者はこの問題に答えるために、工学系研究者との共同研究によってロボット顕微鏡システムを確立し、光生理学的手法によって行動中の線虫 <i>C. elegans</i> 神経活動の計測や操作を高精度に行う事を可能にした。まず、開発したシステム(OSB)をドーパミン依存的な餌応答行動に適用し、<i>C. elegans</i> のドーパミン細胞の機能的多様性を見出した。この結果は、H28年5月に Scientific Reports 誌に掲載された。</p> <p>次に、この顕微鏡システムを定量的に変化する匂い刺激を提示できるように改良し (OSB2)、<i>C. elegans</i> の匂い応答行動における感覚情報処理を解析した。特に、忌避匂い 2-ノナンンの匂い濃度上昇に応答する感覚ニューロン ASH と匂い濃度減少に反応する感覚ニューロン AWB に関して、複数の匂い濃度勾配に対する応答を計測し、さらにこの応答を数理モデルによって解析した。その結果、濃度上昇に対する ASH ニューロンの活動応答は時間微分的であり、反射的な行動応答と結びついていること、一方で濃度減少に対する AWB ニューロンの活動応答は時間積分的であり、匂い減少が一定量を超えた時に「方向転換」から「直進」への行動状態遷移を引き起こしていると考えられること、などを見出した。興味深いことに、積分的な神経活動は、「感覚情報の時間積分が一定値を越えた時に行動の選択が起こる」という点において、霊長類を中心とした知覚意思決定 (perceptual decision-making) のための神経活動との類似している。谷本氏は、さらなる遺伝学的解析により、これら応答の違いを生み出す分子的基盤が、細胞選択的なカルシウムチャネルの関与に起因すると考えられることを明らかにした。この結果は、H29年5月下旬に eLife 誌に掲載される予定である。</p> <p>これらの成果は、従来の手法では解明できなかった新しい神経機能についての理解をもたらしたのみならず、今後の研究の発展に寄与するもので、理学上貢献するところが大きい。</p> <p>よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分に価値のあるものであると認める。</p> | |