

各報道機関文教担当記者 殿

## 昆虫の生得的行動を制御する 神経細胞集団を解析する新技術を確立！

金沢大学理工研究域生命理工学系の木矢星歌研究協力員（日本学術振興会特別研究員 RPD）、自然科学研究科自然システム学専攻修士修了生の塩谷捺美さん、疾患モデル総合研究センターの西内巧准教授、自然科学研究科生命理工学専攻／ナノ生命科学研究所の岩見雅史教授、理工研究域生命理工学系の木矢剛智准教授らの研究グループは、昆虫が行動する際に、脳で活動した神経細胞を可視化し、さらに光によってその細胞を再活性化することができる新技術を確立しました。また、本技術を用いて、異なったタイミングの行動時に活動した神経細胞を、同一個体内で個別に標識する手法を確立し、昆虫の脳内において、オスやメスにのみ反応して活動する細胞を同定することに成功しました。

昆虫は多様な生得的行動（本能行動）を示しますが、これらの行動がどのような神経回路の働きによって生み出されているのか、不明な点が多く残されています。

今回、本研究グループは、モデル昆虫であるショウジョウバエを用い、神経活動依存的に発現する遺伝子のゲノムワイドスクリーニングによって *stripe* という遺伝子を発見しました。また、*stripe* の転写活性を利用し、神経回路を可視化・操作する技術を確立しました。本技術を用いて、交尾や攻撃行動を示したオスのショウジョウバエの脳で活動した神経細胞を、緑色蛍光タンパク質（GFP）（※1）で可視化しました。また、この可視化した神経細胞にチャンネルロドプシン（※2）を発現させることで、光照射によってオスの交尾行動を誘発させることや、内向き整流性カリウムチャンネルを発現させることで、オスの交尾行動を抑制することに成功しました。さらに、2つの異なったタイミングで起きた神経活動を、同一個体内でそれぞれ別個に標識できる新技術を確立し、オスのショウジョウバエの脳では、オスやメスだけに特異的に反応して活動する細胞があることを明らかにしました。

これらの知見は将来、さまざまな昆虫の生得的行動の神経基盤の解明及び行動の制御に活用されることが期待されます。

本研究成果は、2023年8月7日午後3時（米国東海岸標準時間）に米国科学アカデミー紀要「*Proceedings of the National Academy of Sciences*」のオンライン版に掲載されました。

## 【研究の背景】

昆虫をはじめとした動物は、種ごとに異なる多様な生得的行動（本能行動）を示します。それぞれの種のゲノムには生得的行動を制御するための遺伝的プログラムが刻み込まれていますが、生得的行動が動物の脳のどのような神経回路で生み出されているのか、ということについては不明な点が多く残されています。また、多数の神経細胞が集まった脳では、異なった機能を持った神経細胞が近接して集まっていることが多く、一つの細胞レベルで生得的行動への関与を明らかにすることは困難でした。

そのため、本研究グループは、生得的行動時に活動が起きた神経回路を単一細胞レベルで明らかにし、その神経回路の活動を人為的に操作できる技術の確立に取り組んできました。

## 【研究成果の概要】

本研究グループは、モデル昆虫であるショウジョウバエを用いて、神経の活動が生じた際に発現量が増加する遺伝子を、マイクロアレイを用いてゲノムワイドにスクリーニングしました。このスクリーニングによって、*stripe* という遺伝子が神経活動の指標として利用可能であることを見出しました。次に *stripe* を発現した細胞が、GFP を発現するようになる遺伝子組換え系統を作製し、活動が起きた神経細胞を特異的に GFP で可視化できる手法を確立しました。本手法により、オスのショウジョウバエがメスに対して交尾行動を示した際に活動した脳の神経回路を明らかにしました。（図 1）。

次に本研究グループは、CsChrimson というチャンネルロドプシンを利用し、GFP で可視化した神経細胞を、光で活性化できる系統を作製しました。この系統を用い、メスとの交尾行動を経験したオスのショウジョウバエに光を照射すると、メスがいない状態でも、片方の羽を広げて腹部を曲げる交尾行動を示しました（図 2）。また逆に、内向き整流性カリウムチャンネルを利用し、GFP で可視化した神経細胞の活動を阻害した系統を作製すると、メスとの交尾行動を経験したオスのショウジョウバエでは、メスに対する交尾行動が阻害されることを見出しました。これらの結果は、GFP によって可視化された神経細胞が交尾行動の制御に関わっていることを、人為的な神経活動の ON・OFF によって証明できたことを示しています。

さらに本研究グループは、内在性の Stripe タンパク質と遺伝子組換え技術を用いた GFP を同一個体内で二重標識できる技術を確立しました（図 3）。これによって、2つの異なる行動タイミングで生じた神経活動を同一個体内で、単一細胞レベルで比較することが可能になりました。本技術を用い、オスと出会ったときに活動した神経細胞と、メスと出会ったときに活動した神経細胞をそれぞれ別個に標識したところ、オスのショウジョウバエの脳において、オスやメスだけに特異的に反応して活動する神経細胞を、近接した細胞集団内においても個別に同定することに成功しました。

## 【今後の展開】

本研究により、昆虫において活動があった神経細胞や神経回路を可視化し、自由に活動操作できる技術が確立しました。本研究で見出した *stripe* 遺伝子は、多くの動物種に

高度に保存されていることから、*Stripe* の発現を指標とした神経回路の解析が進展すると期待されます。特に内在性の *Stripe* タンパク質は、抗体で検出することができるので、遺伝子組換え技術が確立していない昆虫においても、行動に関わる神経回路を解析することが可能です。昆虫の生得的行動の神経基盤を理解することは、基礎科学的な意義があるだけでなく、ミツバチやカイコガのような益虫の効率的利用、害虫の駆除、マラリア・デング熱・ジカ熱などのような蚊が媒介する病気の防疫などにつながる可能性があります。また本研究によって、性質の似た細胞が近接して集まっている場合においても、一つ一つの細胞の個性の違いを明らかにする手法が確立したことにより、脳の精密な神経回路の研究が、今後大きく進展するものと期待されます。

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業、金沢大学さきがけプロジェクト 2022、武田科学振興財団、岸本基金研究助成の支援を受けて実施されました。

### 【掲載論文】

雑誌名 : *Proceedings of the National Academy of Sciences*

論文名 : Cell assembly analysis of neural circuits for innate behavior in *Drosophila melanogaster* using an immediate early gene *stripe/egr-1*

(初期応答遺伝子 *stripe/egr-1* を用いたキイロショウジョウバエの生得的行動の神経回路の細胞集団解析)

著者名 : Seika Takayanagi-Kiya\*, Natsumi Shioya, Takumi Nishiuchi, Masafumi Iwami, Taketoshi Kiya\*

(木矢星歌\*, 塩谷捺美, 西内巧, 岩見雅史, 木矢剛智\*)

\* : 同等貢献・責任著者

掲載日時 : 2023 年 8 月 7 日午後 3 時 (米国東海岸標準時間) にオンライン版に掲載

URL : <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.2303318120>

交尾行動なし

交尾行動あり

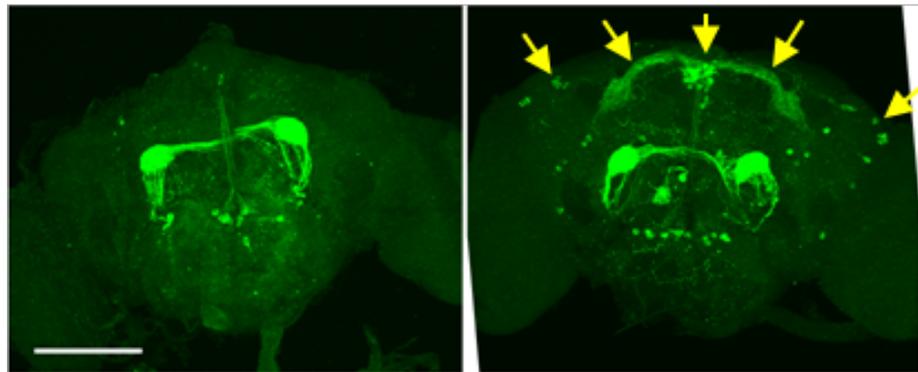


図 1

オスのショウジョウバエが交尾行動を示した際に活動した脳の神経回路を可視化した。

交尾行動時に神経活動が起きた細胞を GFP（緑色）で可視化した。交尾行動をしていないオス（左）と、交尾行動をしたオス（右）の脳の写真。交尾行動をした場合にだけ見られる神経回路を黄色の矢印で示している。スケールバーは 100 $\mu$ m。

交尾経験なし

交尾経験あり

光照射なし  
光照射あり

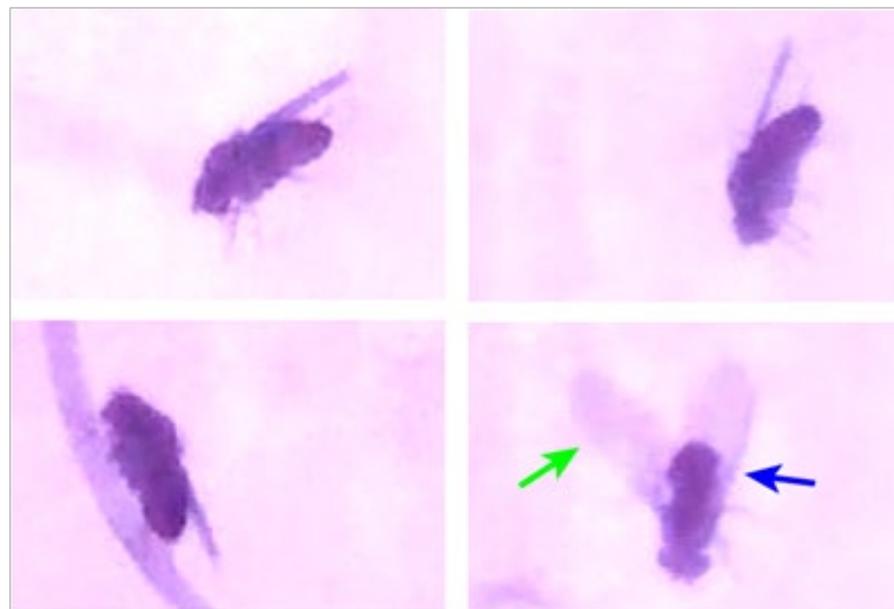


図 2

オスのショウジョウバエの性行動を光照射によって経験依存的に操作した。

交尾の経験がないオス（左）は光照射に対して何も行動を示さなかったが、交尾を経験したオス（右）は光照射によって、腹部を曲げ（青矢印）、片方の羽を広げる（緑矢印）交尾行動を示した。

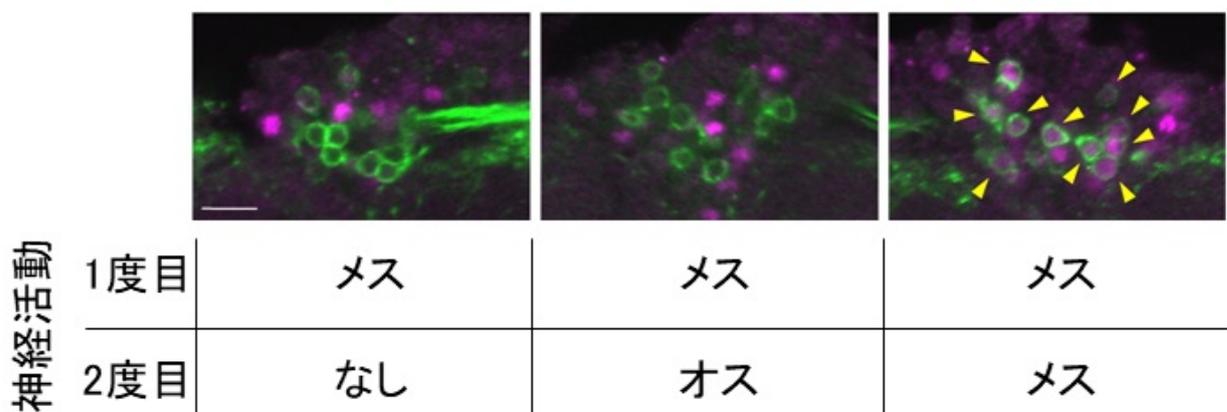
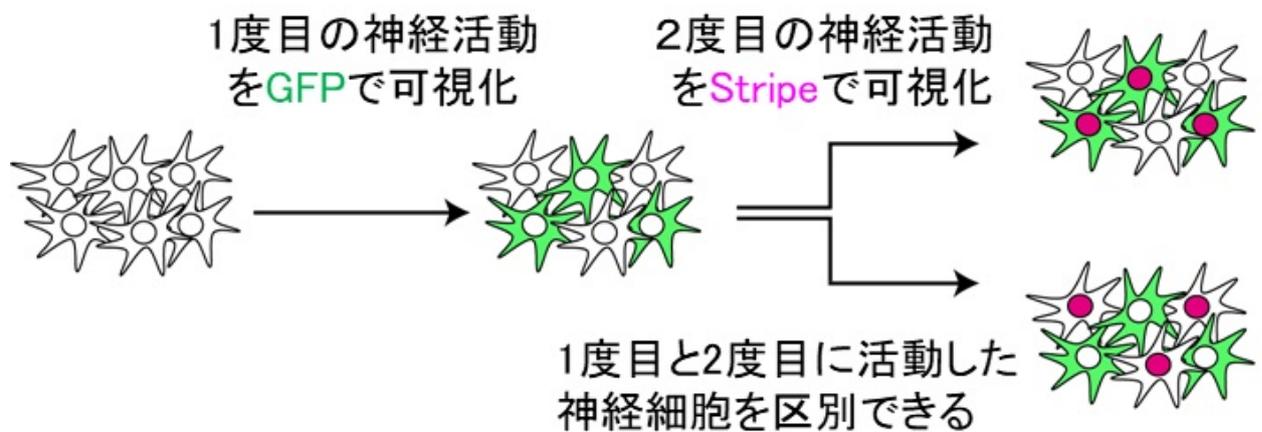


図 3

2つのタイミングで活動した神経細胞を同一個体内で、単一細胞レベルで可視化した。  
 (上段) 1度目の神経活動を GFP (緑) で可視化し、2度目の神経活動を Stripe タンパク質 (ピンク) で可視化する。これによって、それぞれのタイミングで活動の起きた細胞を別個に可視化できる。

(下段) メスとの交尾行動時の神経活動を 1度目に GFP (緑) で可視化し、2度目の行動がなし、オスへの攻撃行動、メスとの交尾行動の場合をそれぞれ Stripe タンパク質 (ピンク) で可視化した。その結果、オスとメスに応答して活動する神経細胞がそれぞれ別個であることが、単一細胞のレベルで分かった。GFP (緑) と Stripe タンパク質 (ピンク) の両方でラベルされた細胞 (1度目と2度目の両方で活動した細胞) を黄色の矢じりで示した。スケールバーは 10 $\mu$ m。

## 【用語解説】

### ※1 緑色蛍光タンパク質 (GFP)

下村侑博士 (2008 年にノーベル化学賞を受賞) によってオワンクラゲから発見されたタンパク質。青色の光を当てると緑色に光るため、神経細胞の可視化に使用される。

### ※2 チャネルロドプシン

藻類から発見された光駆動型のイオンチャネル。光によってチャネルの開閉が制御されるため、神経細胞に発現させると、光によって神経活動を制御することが可能となる。

---

## 【本件に関するお問い合わせ先】

### ■ 研究内容に関すること

金沢大学理工研究域生命理工学系 准教授

木矢 剛智 (きや たけとし)

TEL : 076-264-6248

E-mail : [kiya@staff.kanazawa-u.ac.jp](mailto:kiya@staff.kanazawa-u.ac.jp)

### ■ 広報担当

金沢大学理工系事務部総務課総務係

松田 理奈 (まつだ りな)

TEL : 076-234-6951

E-mail : [s-somu@adm.kanazawa-u.ac.jp](mailto:s-somu@adm.kanazawa-u.ac.jp)