

神経行動形質を決定付ける遺伝子—環境相互作用の細胞機構

How sexual experience modulates innate behavior:
a neurogenetic study in *Drosophila*

課題番号：16H06371

山元 大輔 (YAMAMOTO, DAISUKE)

情報通信研究機構・未来 ICT 研究所・上席研究員



研究の概要（4行以内）

ショウジョウバエの野生型雄は、集団で生活すると求愛行動が抑制されるが、同性に求愛する *fruitless* 変異体雄では逆に社会経験によって求愛が亢進し、隔離によりこの行動が抑制される。求愛行動の最高次中枢から膜電流を記録したところ、2種の K^+ 電流が集団生活をすると遺伝子型に依存して増加または減少を示し、これにより社会経験を細胞に刻印することが示唆された。

研究分野：総合領域 神経科学一般

キーワード：求愛行動、イオンチャンネル、可塑性、社会要因、ショウジョウバエ

1. 研究開始当初の背景

同性に求愛するショウジョウバエの突然変異体、*fruitless* の雄を羽化後すぐに隔離して育てると、雄に対して求愛しなくなる。変異体雄同士の求愛は相手のハエの動きによって引き起こされ、ハエ以外の動くもの、例えばスクリーンに映し出した動く縞模様を見るだけで、その映像に向かって求愛を始める。雄の求愛行動の引き金を引く中枢である外側前大脳から Ca^{2+} イメージングにより神経活動を記録したところ、*fruitless* 変異体雄特異的、かつ集団経験依存的に視覚刺激に対して興奮性応答が現れた。これがニューロンに刻印された社会経験であると考えた。

2. 研究の目的

集団経験に依存して *fruitless* 変異体雄の外側前大脳に惹起される視覚刺激に対する応答が、どのような機構によって生み出されるのかを明らかにするのが目的である。すなわち、集団経験をコードする感覚入力の実体を突き止めその入力経路を明らかにする。また、求愛の解発刺激である視覚情報の処理システムを特定する。そして、求愛開始の中枢である外側前大脳 P1 介在ニューロン(20 個/半球)に集団経験依存的に生ずる電気活動の変容を捕捉する。更にその分子機構を解明する。

3. 研究の方法

集団経験をコードするフェロモン入力路は構成細胞をクローン標識で同定する。同性間求愛を解発する視覚入力回路は、活動依存的に順行標識できる trans-Tango 法と Ca^{2+} イメージング、csChrimson を使った行動強制誘導の組み合わせにより解明する。P1 ニュー

ロンの特変容は *in vivo* patch clamp にて捉える。その基盤にあるゲノムレベルの変化には PalI occupancy 解析と ChIP で迫る。

4. これまでの成果

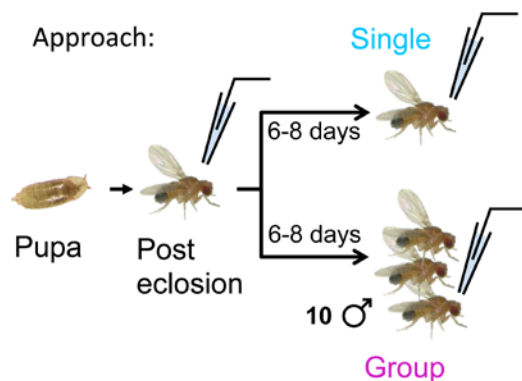
fruitless 変異体雄が集団経験依存的に雄どうしで求愛するには、同種の個体によって“汚された”容器にいることが重要である。これは接触化学的フェロモンの関与を示唆する。そこで、前肢に存在するフェロモン受容細胞を *fruitless-GALA* の MARCM 単一細胞クローン標識によって網羅的に同定した。その結果、従来看過されてきた未知のフェロモン受容細胞を発見した。さらに複数のフェロモン受容ニューロンと二次ニューロン間の接続を GRASP により可視化した。

求愛の解発に関わる視覚入力路を特定し、高次中枢での情報処理を理解するべく、*fruitless* 陽性介在ニューロンのクローンを作成して光遺伝学的に強制活性化した。すると、実際の求愛時に生じる要素的運動のいくつかを再現できた。例えば、求愛ターゲットの後ろからアプローチして相手の右後ろから左後ろ、あるいはその逆へと回転しながら翅を羽ばたかせるサークリングと呼ばれる運動に似た動きである。ただし、自然な求愛とは異なり、活性化された介在ニューロンがどれであるかによって、引き起こされる雄の動きはどちらか一方方向への動きに決まっていた。また、交尾するために素早くごく短距離だけ前に進む運動を引き起こす介在ニューロンも見

出された。
 続く GCaMP6s を用いた Ca²⁺イメージングでは、胸部で定位置に拘束した被験雄をトレッドミル上に置いて視覚刺激を与え、求愛行動を惹起した。光遺伝学的に強制活性化させた時に求愛の要素的運動を引き起こすことのできたものと同じ介在ニューロン群に着目し、それらの神経活動を視結節から記録してみると、求愛行動が実際に惹起された場合に限って、大きな興奮性の応答が生じた。これらの一連の観察から、視結節に投射する一連の視覚性介在ニューロンが、求愛行動の異なる要素的運動を個々に分担して誘導すると考えられた。求愛行動の開始をトリガーする脳のシステムは個別的な運動要素をコードすることなくその司令を胸部の運動中枢へと伝える、という伝統的な考え方とは明らかに異なる知見がこうして得られた。リアルタイムで求愛を解発する視覚情報は従って P1 ニューロン群に収斂することはないと思われる。P1 ニューロンは上記の視覚系介在ニューロン群に対してゲートとして働きかけ、その求愛への“決定権”を行使するのかもしれない。

一方、P1 ニューロンの patch-clamp 実験により、膜電位固定下で記録されるのは主として3種の外向き K⁺電流であった。注目すべきことに、集団生活個体と隔離個体との間で個々の K⁺電流成分が占める割合（電流密度）は有意に異なっていた。しかも、野生型と *fruitless* 変異体とでは、別の K⁺成分が経験依存的に変化していた。この事実から、P1 ニューロンに集団経験を記録する一つの機構は、K⁺電流の修飾であると考えに至った。

この K⁺電流成分の修飾はいかにして増されるのか。Fruitless タンパク質はクロマチン制御因子として転写プロファイルを変化させることで機能すると考えており、その標的として K⁺チャンネル、あるいはその制御分子の遺伝子群があると推論される。そこで、この仮説を検討するために、*fruitless* 発現細胞に限定した polymerase II occupancy 解析を行うべく、新規のツールとなるコンストラク



異なる飼育条件の被験体での patch clamp

トを構築してそれを持つ形質転換バエを作出した。

5. 今後の計画

今後は、集団経験をコードする接触化学感覚の入力、直接求愛行動を引き起こす視覚系からの入力、これらと P1 ニューロンとの接続点を突き止め、各経路の結節点で集団経験がどのような仕組みによって回路に刻印されてゆくのかを解明する。また、経験をコードするニューロンの機能変容が、どの分子エレメントの働きによって生ずるのかを明確にする。特に P1 ニューロンについては、すでに二種類の K⁺電流の密度の変化を捉えているので、関与するイオンチャンネルの遺伝学的同定、その機能修飾のメカニズムを特定し、さらに Fruitless タンパク質の存否と個体の生活条件に基づくゲノムレベルでの転写プロファイル変化の解明へと繋げて行く。

6. これまでの発表論文等（受賞等も含む）

Sato, K., Ito, H., Yokoyama, A., Toba, G. and Yamamoto, D. (2019) Partial proteasomal degradation of Lola triggers the male-to-female switch of a dimorphic courtship circuit. *Nature Commun.* 2019 Jan 11;10(1):166. doi: 10.1038/s41467-018-08146. PMID:30635583.

Kimura, K.-i., Urushizaki, A., Sato, C. and Yamamoto, D. (2018) A novel sex difference in *Drosophila* contact chemosensory neurons unveiled using single cell labeling. *J. Neurogenet.* 2018 Nov 20:1-9. doi: 10.1080/01677063.2018.1531858. [Epub ahead of print] PMID:30457022.

Chowdhury, Z. S., Sato, K. and Yamamoto, D. (2017) The core-promoter factor TRF2 mediates a Fruitless action to masculinize neurobehavioral traits in *Drosophila*. *Nature Commun.* 8, 1480.

Tanaka, R., Highchi, T., Kohatsu, S., Sato, K. and Yamamoto, D. (2017) Optogenetic activation of the *fruitless*-labeled circuitry in *Drosophila subobscura* males induces mating motor acts. *J. Neurosci.* 37, 11662-11674.

Yamamoto, D. and Kohatsu, S. (2017) What does the fruitless gene tell us about nature vs. nurture in the sex life of *Drosophila*? *Fly (Austin)* 11, 139-147.

7. ホームページ等

<http://www2.nict.go.jp/frontier/evoneuro/index.html>