

# 慶應義塾大学理工学部生命情報学科 生物物理・神経情報学研究室

岡 浩太郎、堀田 耕司

私の所属する生命情報学科には8ユニットの研究室があり、私の研究室は「神経情報・生物物理研究室」という名称で呼ばれている。今回広報委員の先生から研究室の紹介を比較生生理化学誌に書きなさいとご指示を頂いたのは、私の研究室が多様な生物を扱っていることをお知りになってではないかと考えている。現在卒論のために配属されている学部4年生5名、修士学生7名、博士学生4名とスタッフとして私と助教の堀田さんの2名で研究室を構成している。

私の研究室では記憶や学習、生物のパターンジェネレーション、神経回路のメカニズム、発生等について主にイメージング技術を用いて研究を進めている。そこでそれぞれの研究についてそのユニークさを中心に以下で説明をしてゆくことにする。

## 「記憶と学習」

この研究テーマにはシマミズ(Eisenia fetida)を用いて研究を行っている。私は米国のNIHに留学したときから、「無脊椎動物の連合学習(古典的条件付け)」に興味をもち、当時はウミウシ(Hermisenda crascomis)に光と振動の古典的条件付けを行い、その神経メカニズムの研究を行ってきた。帰国後もウミウシを材料として研究を継続したいと考えていたのだが、由緒正しいウミウシ(?)を米国から購入するのはコストと輸送の労力(誰かが通関のために成田に毎度出さなければならぬ)のために、これを断念し、簡単に入手できてあまり注目されていない生物として釣具屋で入手できるミズミズを選んだ。この材料は頭部と咽頭下神経節を除くとその構造は体節ごとに繰り返されており、用意にプレパレーションを作ることが可能である。このミズミズに振動(条件刺激)と光(無条件刺激)を繰り返し与えると、条件刺激だけで光を嫌がる逃避行動を誘導することが知られていた。私たちのところでもこの実験を再現し、特に条件刺激と無条件刺激を加える間隔を調整することにより、長期(24時間以上持続する)と短期(3時間程度しか持続しない)記憶を作り分けることができることを示し、さらに長期記憶が学習直後の低温処理や、転写・翻訳阻害剤により抑制されることを明らかにした。この研究はセロトニンを腹腔内に事前に注入することにより短期学習が促進されることから、そのメカニズムの解明と「どの神経細胞で学習が行われているのか」という観点から、記憶に関わると考えられているCREBのクローニングと種々の薬理的な研究を進めている。

## 「生物のパターンジェネレーション」

生物が情報をやり取りする際に、時空間的に複雑なパターンが生成されることが知られており、そのメカニズムを神経回路のレベルで知ることは興味深い。我々の研究室ではミズミズの這う運動とイカの体色変化のパターン生成の解明を行っている。

ミズミズは体を収縮させて這行運動を行う。このような運動パターンを生成するには何らかのパターンジェネレータにあたる神経回路がミズミズ腹髄神経節に存在するものと考えられるが、その実体は知られていない。我々の研究室ではこのパターン生成が単離した神経標本でもオクトパミンにより生成されることを電気生実験から明らかにした。またこの神経細胞を同定することを考えて蛍光色素FM1-43による機能的シナプス構造の解析方法の開発を進めてきている。FM1-43は神経活動に応じてシナプス小胞が細胞膜に融合するときに小胞膜に取り込まれ、これを共焦点レーザー顕微鏡でイメージングすることにより、パターン生成に関わる神経細胞を一網打尽に染め分けることが可能である。現在特にミズミズの縦方向の収縮と半径方向の収縮を担う神経細胞の同定に成功し、この神経細胞が神経伝達物質であるFMRFとセロトニンの双方を含む特別な神経細胞であることを明らかにした。

またパターン生成の問題として、「イカはどのように体色を急速に変化させるのか?」という問いに注目し、中枢神経から切り離した末梢での体色パターン生成の定量的観察を進めている。特に注目すべき点として、イカ色素胞の収縮は海水中のナトリウムイオン濃度に敏感に反応し、ナトリウム濃度上昇に伴って周期的な応答からオスチックな応答に変化することを明らかにした。また色素胞を大きな黒、小さな黒、黄色の3つに分けて解析し、パターンを生成している時としないときの色素胞の振動的なパターンが個々の色素胞を越えて複雑な同期現象を示すことを突き止めた。

## 「トリさえずりの神経機能解明」

個体間コミュニケーションの一例として、キンカチョウのさえずりに関わる神経回路についての研究を進めている。キンカチョウの神経研究では従来オス鳥がどのようにさえずりを獲得するのかについての研究が主流であったが、私の研究室では情報の受け手であるメスキンカチョウの脳に注目し、「オス鳥のさえずりをメス鳥がどのように評価するのか?」を分子生物学的な方法とイメージング技術を利用して調べてきた。

特にさえずりを聞いたときに一過的かつ特異的に発現する最初期遺伝子Arcに着目し、2種類のさえずりを聞いたときに応答する細胞ポピュレーションをArcに対するin situ hybridizationにより分類することに成功し、特にあまり注目されてこなかった海馬領域がさえずりの聞き分けには重要であることが示唆された。現在はトリ海馬が脳表に露出していることを利用して、「神経活動を細胞内pH変化変化として蛍光イメージングする」ことを行っている。またメスキンカチョウのオス鳥の好みとさえずりとの関係を明らかにするための行動生物学と分子生物学を組み合わせた研究を開始した。

## 「種々のバイオイメージング技術の開発」

今までに述べた研究では時空間的なパターン生成の解析に関わるものが多く、またこのような解析には細胞内でのシグナル伝達過程をイメージとして捉えることが有力な研究手段となっている。私たちの研究室では上記の現象解明を目指した研究に利用できるような新規なイメージング技術の開発も進めている。私が神経細胞の研究を始めてきた当初から細胞内カルシウムのイメージングを行うことにより神経細胞の興奮状態をモニターするだけでなく、神経細胞機能が局所的なカルシウム濃度変化によりどのように変化するのか(例えば学習に関わるシナプスの可塑性とカルシウムとの関係)について調べる研究を行ってきた。対象とする生物はミズミズ、コオロギからスタートして現在では線虫の神経回路イメージングを行ってきた。イメージングの方法も初期の研究では細胞内にカルシウムインジケータであるFura-2をマイクロインジェクションし、それを蛍光顕微鏡で観察することが主であったが、現在では緑色蛍光タンパク質等の蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)により、細胞内にタンパク質型蛍光センサーを遺伝子導入により発現させることで神経細胞の可視化を進めている。

このバイオイメージング技術の開発研究では培養細胞を用いた研究も進めており、特に複数の細胞情報を時間遅れなく同時に可視化するための方法の開発を進めている。このような研究の成果として、PC12細胞内のカルシウムとマグネシウムイオンの同時イメージングに世界で初めて成功した。特にミトコンドリアにストレスをかけると、ミトコンドリア内から細胞質への急速なマグネシウムイオンの放出が起きることも分かってきており、従来研究が遅れていた細胞内マグネシウムイオンの役割を明らかにできるものと注目されている。また最近では2種類のFRET型センサーを単一細胞に遺伝子導入させることにより、1励起4蛍光の同時イメージングのための特殊な光学系を開発することにより、細胞内環状アデノシン-リン酸と環状Gアノシン-リン酸の同時可視化や、拍動する心筋細胞からのカルシウムと環状アデノシン-リン酸の同時可視化に世界で初めて成功している。また神経細胞のように通常の遺伝子導入方法が難しい場合を考えて、ウイルスベクターを用いてこれら蛍光タンパク質ベースのセンサー-タンパク質を細胞内発現させる系を駆逐している。

## 「ホヤを用いた1細胞レベルのイメージング」

上述のような種々の方法で細胞内の現象を可視化し、さらに個体全体を見渡すことができれば発生や行動などの生体の高次機能を細胞レベルで体系的に理解できるはずである。脊椎動物に近縁で体制の単純なホヤはこのような解析にまたとないモデル生物である。我々の研究室では現在ホヤを用いて末梢神経全体のイメージングや卵から幼生へと発生していく様を個体まるごと1細胞レベルで3次元的に記載したデータベースFABA

(<http://chordate.bpni.bio.keio.ac.jp/faba>)を作成している。

## 「最後に」

一研究室で扱う内容としてはあまりにも幅が広く、「もっと集約したら」という意見がむしろ学生からも聞かれる。個別の興味に対し、いろいろな手法を身につけることが可能なことが本研究室の売りでもある。ポスの言うことをあまり真に受けずに自由に研究することの方が将来研究者になったときに必ず役立つものと信じているが、「一人一テーマ」というのはなかなか難しい時代になってきたのを痛切に感じている。