

## ゼブラフィッシュ発達期における 逃避反射神経回路形成の活動依存性に関する研究

### [1] 組織

代表者：八尾 寛  
(東北大学大学院生命科学研究科)  
対応者：東海林 互  
(東北大学加齢医学研究所)  
分担者：梅田 桂子  
(東北大学大学院生命科学研究科)

研究費：物件費20万円、旅費0円

### [2] 研究経過

あらゆる動物において、個体にとり危険な情報を感知すると、ステレオタイプの運動により危険から逃れる行動、すなわち逃避反射行動が認められる。しかし、感覚情報が行動を引き起こす神経回路が発達期においてどのように形成されるかについては、ほとんど知られていない。ゼブラフィッシュの幼生においては、表皮への接触刺激が脊髄のRohon-Beardニューロンにより感知され、介在神経を中継して対側の運動神経を作動させることによって接触を回避するような遊泳行動を引き起こすことが知られている(図1)。この逃避反射行動は受精後24時間以内に形成されるが、48時間以降はRohon-Beardニューロンが消失し、代わって脊髄後根神経節ニューロンなどの体性感覚ニューロンを介する反射が発達する。

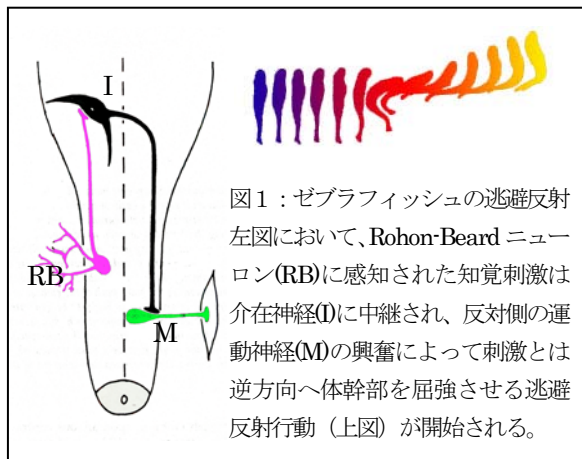


図1：ゼブラフィッシュの逃避反射  
左図において、Rohon-Beardニューロン(RB)に感知された知覚刺激は介在神経(I)に中継され、反対側の運動神経(M)の興奮によって刺激とは逆方向へ体幹部を屈強させる逃避反射行動(上図)が開始される。

本研究では、これらの逃避反射行動の発達における神経活動の関与を明らかにすることを目的として、光駆動可能なイオンチャネルであるチャンネルロドプシンを神経細胞にコンディショナルに発現する手法を開発した。

上記の研究活動を遂行するために、7月21日(加齢研)と10月25日(生命科学研究科)に研究打ち合わせを開催した。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度の研究成果は、まず第1にUASプロモーターの下流に最適化された改変チャンネルロドプシン(Wang et al., 2009)の一つ、チャンネルロドプシンワイドレシーバー(ChRWR)をコードした配列を有するUAS:ChRWR-EGFPトランスジェニック・ゼブラフィッシュを作製した。これをエンハンサートラップ法により作られたGal4トランスジェニックゼブラフィッシュ系統の一つSAGFF36B(Asakawa et al., 2008)と交配し、Rohon-Beardニューロン特異的にChRWRを発現する個体を得た(図2)。

第2に、得られたトランスジェニック・ゼブラフィッシュの体幹部に青色光(480nm)・緑色光(540nm)・赤色光(600nm)の照射を行い、前2者においてRohon-Beardニューロンの光駆動による逃

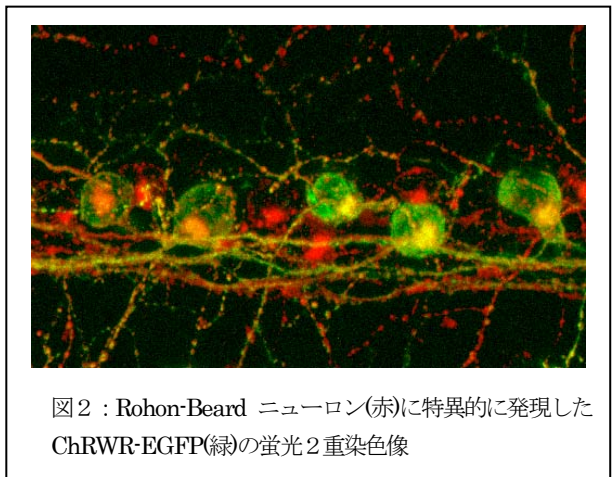
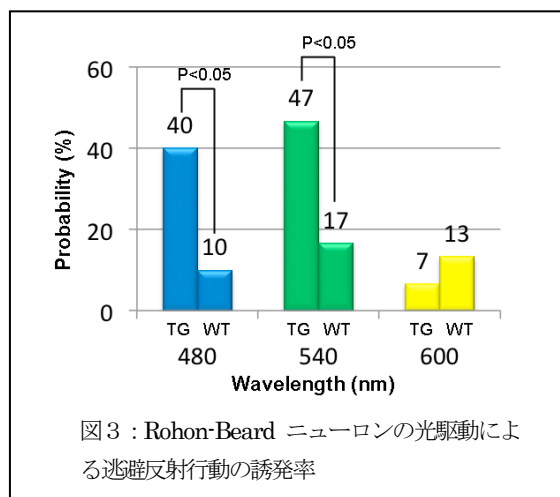


図2：Rohon-Beardニューロン(赤)に特異的に発現したChRWR-EGFP(緑)の蛍光2重染色像



避反射行動の誘発に成功した (図3)。なお反射行動の光波長異存性は ChRWR のそれに対応していた。

### (3-2) 波及効果と発展性など

本研究の成果によって学外研究者との交流が活性化し、国立遺伝学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター・名古屋大学との共同研究を新たに開始した。最適化したチャネルロドプシンをゼブラフィッシュに適用することによって、神経細胞の光駆動による動物個体の行動制御という新しい研究領域を強力に推進することが期待される。

### [4] 成果資料

本研究成果は投稿準備中である。