

線虫 *C.elegans* の全脳イメージングから、 高精度な神経回路解析を行うことを 目指した実験系の改良



SATテクノロジー・ショーケース2022

■ はじめに

動物の脳は、適切な情報処理を、神経細胞が連絡し合って構築するネットワークの中で実行している。したがって、脳の機能を理解するためには、脳の広範囲を対象にした活動解析が重要になる。

我々は、線虫 *C. elegans* をモデルとして、どのような神経回路が行動制御に用いられるかの解析を進めている。そして、線虫においても全脳イメージングを行うために、頭部中枢神経系に含まれるほぼ全ての神経細胞を対象に、神経活動を高速かつ個別に計測できる実験系（4Dイメージングシステム）を立ち上げた（Fig. 1）。しかし、従来の実験系では、個々の神経細胞の特徴付けが不十分であり、細胞の位置情報を検出できないケースが生じていた。また、線虫組織の厚みによって、深部の神経細胞の活動計測は難しかった。これらの問題は、神経回路を解析する際の正確さに悪影響を与えていた。

そこで、本研究では、神経解析回路の正確さ向上を目指して、従来の実験系に下記の改良を施した。

■ 活動内容

1. 実験に用いる線虫株の再作成と走性評価

我々の研究では、蛍光の変化によって神経活動が計測できるカルシウムプローブと、細胞の位置標識となる蛍光タンパク質の両方を、神経細胞に発現させた遺伝子組み換え株を用いている。近年、4色の蛍光タンパク質の発現パターンによって、個々の神経細胞が分かりやすく特徴付けられたNeuroPAL株（Fig. 2-a）が開発された⁽¹⁾。また、当研究室では、従来よりも強く発光する蛍光プローブであるXCaMP-Gf₀⁽²⁾が発現した線虫株を、遺伝子組み換えによって作成した。今回、NeuroPAL株とXCaMP-Gf₀株の掛け合わせによって新しい線虫株を作成し、化学走性を基準として実験に適した線虫株かどうか評価した。

2. 振動に応じた励起レーザー強度の自動制御を追加

従来の実験系では、共焦点顕微鏡の焦点面の深度に依らず、励起レーザーの強度が一定となる仕様であった。そこで、焦点面深度に応じて、励起レーザー強度のアナログ制御ができるようにした。このことによって、線虫組織の深部にある神経細胞でも、解析に十分な蛍光シグナルを取得できるようになった（Fig. 2-b）。

3. 光源装置とカメラの自動切り替え制御を搭載

従来の実験系では、同時撮影できる蛍光波長が最大3色であった。今回、カメラと励起レーザー装置を自動で切り替える制御を新しく追加し、光路条件を最適化した。このことによって、NeuroPAL株が発現する4色の蛍光を、順番に撮影できるようになった（Fig. 2-c）。

■ 関連情報等

- (1) Yemini et al. 2021. NeuroPAL: A Multicolor Atlas for Whole-Brain Neuronal Identification in *C. elegans*. *Cell*.
- (2) Chen et al. 2013. Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity. *Nature*.

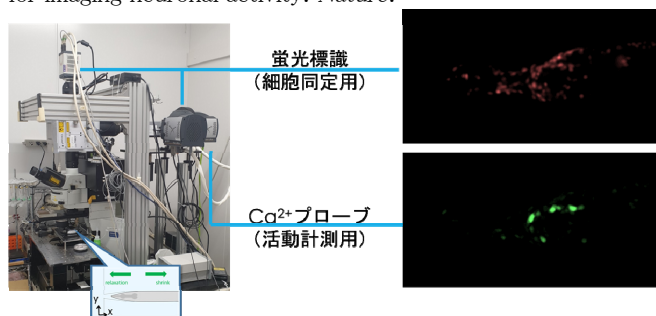


Figure 1 高速かつ個別に計測可能な顕微鏡システム

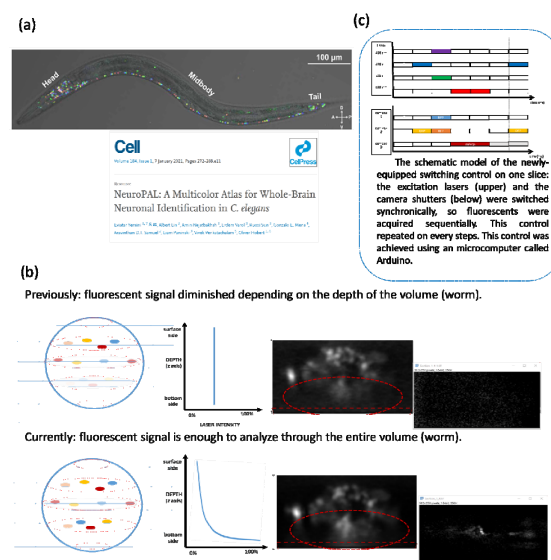


Figure 2

代表発表者 白井 洸充 (しらい ひろみつ)
所 属 九州大学大学院 システム生命科学府
分子遺伝学研究室
問合せ先 〒819-0395 福岡県福岡市西区元岡 744
ウエスト1号館 D-804 号室
TEL: 092-802-4283
E-mail: shirai.hiromitsu.046@s.kyushu-u.ac.jp

■キーワード: (1) 全脳イメージング
(2) カルシウムイメージング
(3) 線虫 *C. elegans*

■ 共同研究者:

大江 紗 (九州大学システム生命科学府)
石津 満興 (九州大学理学部生物学科)
石原 健 (九州大学理学研究院生物科学部門)