

# レーザーでショウジョウバエをコントロールし行動学研究

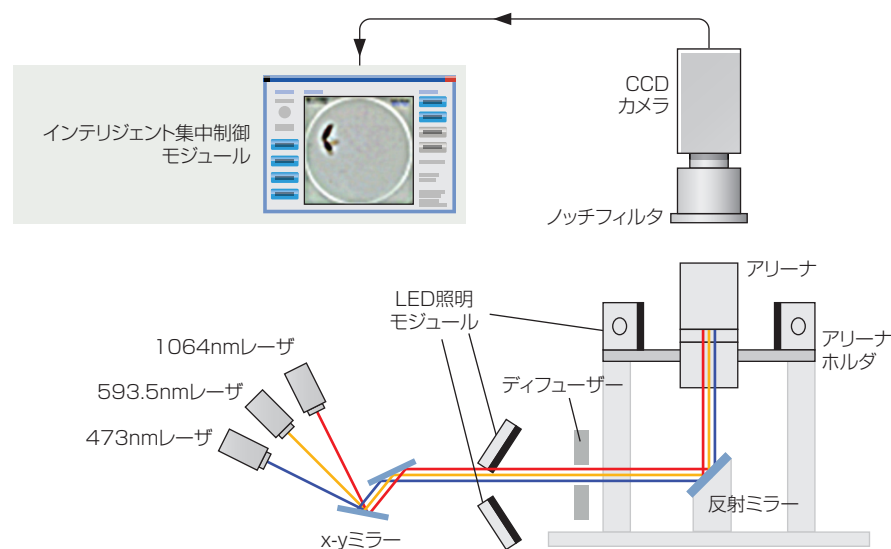
光遺伝学では、生体内で光によって神経細胞を操作し、脳や神経系の動きの理解の助けにする。これには、社会的研究、行動学的研究などの高度な研究も含まれる。光遺伝学で重要な技術

は、遺伝子組換え動物を使用することだ。それにより特定の神経回路を光プローブで標的にしやすくなる。

台湾新竹の国立精華大と玄奘大、台北の中央研究院、カルフォルニア大サ

ンディエゴ校の研究グループは、一般的なキョウジョウバエの記憶を研究するために、自動レーザー追跡・光遺伝学操作システム (ALTOMS) と言う光遺伝学セットアップを開発し、改善を進めてきた。非侵襲システムは同時に熱「パニシメント」(ハエがその行動を変える刺激となる)、チャンネルロドプシン2 (ChR2) とチャンネルロドプシンの赤色移動異種 (ReaChR) を同時に活性化することができる。これは特定のニューロンを活性化したり抑制したりするのに役立つ。ALTOMSには、ハエを追跡するためのリアルタイム画像解析システムも含まれている。

研究グループは、ALTOMSがショウジョウバエの行動実験に使えることを示した。例えば、このシステムはショウジョウバエの脳の記憶回路のマッピングに使用できると研究グループは見ている。



## 3色(波長)システム

このシステムは3波長を装備している、1064nmは熱パニシメントを与える(初期のセットアップでは青色レーザーを用いていた。青色はハエに見えるので、ハエは相容れない反応を起こした)、473nmと593nmは、ChR2とReaChRを活性化するための波長。ビームは、ガルバノミラーを用いてハエに向けられた。選択肢としてはデジタルマイクロミラーデバイス(DMD)があり、DMDを用いるとセットアップは神経系の発動に任意の照明パターンを作ることができる。研究チームは、初期の壊れやすいノッチフィルタセットを、より堅牢なロングパ

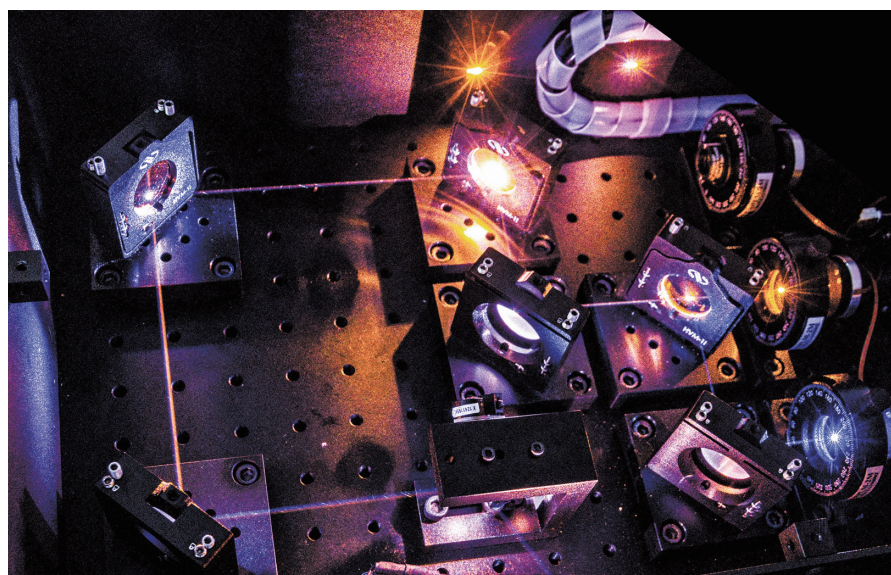


図1 ショウジョウバエの行動をテストするための3色レーザー使用光遺伝学システムを構成するのは、レーザー、ビームステアリングミラー、画像取込モジュール、インテリジェント集中制御モジュールで、集中制御部分でビデオ画像を解析し、それに基づいてレーザーの狙いを定める。その他、実験アリーナもある。レーザースキャニングモジュールは、黄色と青色のニューロントリガーレーザーで照らしている。

スフィルタで置き換えることもした。

装置は4つのサブシステムを含んでいる(図1)。まず本体となるアリーナは直径20mm×高さ3mmのチャンバーで、その中でハエの実験が行われる。画像取込モジュール(ICM)には白色LED照明とCCDカメラが収容されている。次はレーザスキャニングモジュール(LSM)。そしてインテリジェント集中制御モジュール(ICCM)でICMからのビデオを解析し、ハエの位置、方向、翅を開いた角度に基づいてハエの狙い方を計算する。研究チームは、使いやすいグラフィカルユーザインタフェース(GUI)も開発した。

トリガ光が透過しなければならないショウジョウバエの表皮は均質ではないので、研究チームは473nmで光透過を背側前頭部、背側胸部、背側腹部、腹側(前方)腹部、腹側後頭部、吻(昆虫の長く突き出た部分)の6カ所で計測した。ショウジョウバエの腹側はレーザ照射にとって最良エリアであることが証明された。これは、光透過性が比較的高く、ニューロンの集中度が高いためである。

実験は、リアルタイムトラッキングと解析システムは、エラーレートが0.0071%と非常に低いことを示した。飛ぶ方向は97%の精度で検出された。条件付けの制約を調べるために、野生の処女メスハエとオスハエ(光によるニューロン始動のために両方とも遺伝子組換えを行っている)をアリーナに置いた。オスハエがメスから3.5mm程度の距離に2秒以上留まっているとオスハエにパニシュメントビームを照射した。テストによって、生来の振る舞いに反するようにハエを訓練できることが確認

された。

ジャンピングと後方反射テストでは、ショウジョウバエの制御グループにChR2タンパク質を不活性にする食べ物を与えた。実験グループはChR2機能を維持する食べ物を摂った。ジャンピングは、3秒のON/OFF間隔で10サイクル、ショウジョウバエの頭を狙って473nmの光を照射してテストした。一方、後方反射は、593nmの光でハエの胸部を狙ってテストした。

実験では、ジャンピングは $3\text{mW}/\text{mm}^2$ の光強度で始動し、 $21\text{mW}/\text{mm}^2$ 強度で飽和することが示された。また、「巨大繊維」のニューロンだけがジャンピングを引き起こした。後方反射テストからは、結果がショウジョウバエの生態構造とニューロンの配置とが一致していることが示された。

「第2世代ALTOMSシステムの大きな改善点は、照射方向を腹側に変えたこと、IRレーザを挿入したことだ。これは、振動が少ないALTOMSシステムを造りたいからである」と国立新竹大主任研究助手、リン・イェンイン氏は言っている。「われわれの次のフォーカスは、新たな行動分析のために新しい領域を開発することだ。今回のデモンストレーションでは、このシステムは非侵襲的にChR2、NpHR(別のロドプシン対応タンパク質)、ReaChR、それに不可視のパニシュメントを始動することができる、したがって領域の設計には柔軟性がある。その結果、われわれは別の領域の設計を試みようと考えている」。研究グループは、ALTOMSを用いて、様々なショウジョウバエの行動の体系的研究に着手する予定である。

(John Wallace)

#### 参考文献

(1) Y.-Y. Lin et al., Biomed. Opt. Express 6(2) (Jan. 2015); <http://dx.doi.org/10.1364/BOE.6.000514>.

# pco. on the cutting edge

the most versatile

sCMOS camera portfolio

on the market

deep  
cooled

small  
form factor



new  
models  
edge 4.2 LT  
& edge 3.1

special  
microscopy  
readout  
modes

[www.pco.de](http://www.pco.de)  
[www.pco-tech.com](http://www.pco-tech.com)