

審査結果の要旨

氏名 岡田 公太郎

本論文は、「膜電位光学計測法による昆虫匂い情報処理系の研究」と題し、従来、昆虫の神経系に対して成功例を見なかった膜電位光学計測法を、手法の改良により昆虫の脳神経活動の記録法として確立し、さらに昆虫の脳から、匂い刺激時に発生する振動信号の領域の可視化、神経活動修飾物質であるセロトニンが効果を示す脳の領域を明らかにすることで手法の有用性を示したものであり、全4章より構成されている。

第1章は序論であり、研究の背景、従来の研究の概観と問題点の抽出、研究の目的および意義について説明している。昆虫の触角葉での匂い情報処理は脊椎動物の嗅球でのにおい情報処理と同一メカニズムと考えられており、脳における匂い情報処理メカニズムの研究にとり、昆虫の触角葉は大変注目を集めている領域である。昆虫の脳は神経密度が脊椎動物に比して低く、信号の加算効果が期待できない等の理由により、膜電位光学計測法で昆虫の脳神経活動を記録することは難しく、昆虫の脳での報告例はない。本研究の目的は膜電位光学計測法の改良により、昆虫の脳からの神経信号を記録し、計測システムとして確立することである。さらに脳の神経応答パターンを時空間的に記録することで手法の有用性を示すことである。

第2章は膜電位イメージング手法の確立と題し、膜電位光学計測法を昆虫の脳に対し適用する上での適切な諸条件のスクリーニング結果を示し、その結果得られた昆虫の脳からの神経活動の膜電位光学計測結果を高時空間分解能で示している。まず膜電位感受性色素の原理および、その蛍光強度を与える近似式を記述し、次に計測対象となる昆虫の触角葉の構造を記述している。神経活動による光学信号の高信号雑音比を得るため、すなわち、膜電位感受性色素の蛍光強度を増大させるために膜電位感受性色素の蛍光強度を与える式に含まれる各項の値を大きくするために実施した、以下の緒条件の決定および検証を記述している。すなわち、(1)高輝度高安定光源の試作、(2)高量子収率の膜電位感受性色素の選択、(3)励起光および蛍光の計測に最適な波長の決定、(4)計測に使用する対物レンズの選択、(5)計測に使用する受光デバイスのノイズ特性の評価、(6)神経単位面積あたりの膜電位感受性色素の限界濃度、(7)膜電位感受性色素の毒性の評価、(8)内因性信号の評価、(9)電気刺激のアーチファクトが神経信号に与える影響。これらの項目の実施により、「膜電位感受性色素の高濃度、短時間染色」、および「大光量による膜電位感受性色素の励起」という通常膜電位光学

計測法では用いられない実験条件下に昆虫の脳の膜電位光学計測法に最適な条件が存在することを記述している。さらに試作したイメージングシステムについて、ハードウェアの記述をし、膜電位光学計測法により得られた信号の処理について記載している。最後に、試作されたシステムを用い実際の昆虫に本方法を適用し、得られた信号が神経信号であることを神経生理学的に確認している。

3章は膜電位イメージングの昆虫神経系への適用と題し、昆虫の脳に膜電位光学計測法を適用し、現在一般的に行われているガラス微小電極による細胞内記録法では不明であった脳の神経応答の領域について報告しており、これにより本手法の有用性を示した。まず、匂い刺激時のマルハナバチの触角葉で発生する神経信号を本研究により試作したシステムによりイメージデータとして記録し、記録データを最大エントロピ法により周波数解析した結果を示している。振動が発生している領域は糸球体と呼ばれる構造と大きさが一致しており、糸球体単位で振動が発生していることを示唆している。次に、カイコガ触角葉に神経活動を増長する効果を持つセロトニンを投与したときのセロトニンによる神経応答の変化を時空間的に評価している。セロトニンを放出する神経は触角葉に存在することは既知であるが、セロトニンが効果をおよぼす領域については不明であった。本計測により、触角葉内におけるセロトニンによる神経応答の増大が見られる領域には偏りがあり、特に性フェロモンの主成分を処理する領域において顕著に効果を表すことを示している。

4章は結論であり、本研究により明らかになった知見をまとめている。

以上のように本論文は昆虫の脳に対する膜電位光学計測法を確立し、エビガラスズメ、マルハナバチ、カイコガの複数種に適用し、その手法の有効性を実証したものである。本手法および本システムの試作手順、指針は昆虫のみならず、他の動物に対する膜電位光学計測法として同様に有効であると考えられる。よって本論文は博士（工学）の学位申請論文として合格と認められる。