

課題番号 1

加齢コオロギを用いた加齢性記憶障害モデルの検証と新たな加齢関連記憶形成因子の同定

[1] 組織

代表者：松本 幸久

(東京科学大学 リベラルアーツ研究教育
院・生物学分野)

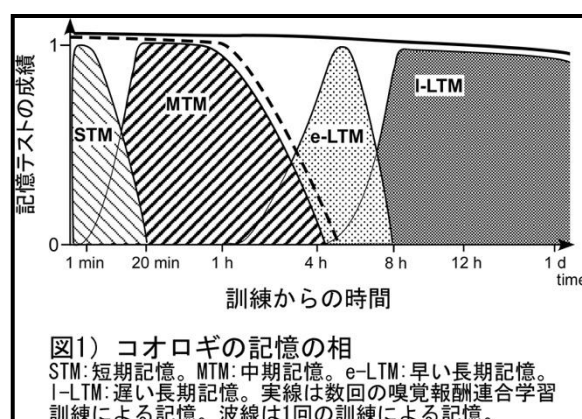
対応者：渡辺 数基

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 20 万円

[2] 研究経過

老化の原因にはいくつかの仮説があるが、活性酸素種による酸化ストレスが原因であるという「活性酸素仮説」はとりわけ有力な仮説である。脳の老化、すなわち加齢に伴う記憶能力の低下（加齢性記憶障害：Age-related Memory Impairment: AMI）はとを含む哺乳類から昆虫、線虫まで様々な動物で見られる現象である。一般に AMI に関する事象に関する実験を行うには自然老化による動物モデルが必要なため、AMI に関連した研究において比較的寿命が長い哺乳類や鳥類を用いるのはしばしば困難であることが多い。一方、昆虫は哺乳類と比べてニューロン数が圧倒的に少ないにも関わらず、特定の実験系において高度な学習能力を持ち、さらに哺乳類の寿命が年単位であるのに対し昆虫の寿命は数週間から数ヶ月と短いため、AMI の研究に適している。研究代表者はフタホシコオロギ (*Gryllus bimaculatus*、以下コオロギ) がラットに引けを取らない高い学習能力を持つことを明らかにしてきた(Matsumoto and Mizunami, *Learn Mem*, 2004; *Biol Lett*, 2006)。そして、コオロギの匂い学習の記憶が短期記憶、中期記憶、長期記憶など異なる相に分けられることを見出した (Matsumoto et al., *Zool Sci*, 2003) (図 1)。成虫脱皮後 1 週齢の若齢コオロギでは 4 回の嗅覚学習訓練により長期記憶が形成できるが、一方、平均寿命を越えた 3 週齢の加齢コオロギでは、学習や短期記憶・中期記憶は若齢コオロギ同様に形成されたが、長期記憶だけが全く形成されなかった。上記の通り、コオロギは加齢に伴う記憶形成の低下: AMI の有用なモデルであると考えられるが、一方で加齢コオロギの脳内でのどのような記憶形成関連因子が影響を受けているか



は未だ明らかではない。そこで本研究においては、約 3 週齢というわずかな期間で加齢の影響を受ける老齢コオロギと、若齢コオロギの脳における様々な記憶形成関連因子を比較することにより、哺乳類では様々な環境要因等にマスクされうる、これまで着目されていなかった新たな AMI 関連因子を同定することを目的とした。

以下、研究活動状況の概要を記す。

本年度は、受け入れ研究者である渡辺助教と e-mail や電話、web ミーティングを活用して、1 ヶ月に 1 度程度の頻度で研究打ち合わせを行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

加齢コオロギと若齢コオロギの脳における遺伝子発現の網羅的解析

加齢コオロギと若齢コオロギの脳をサンプリングし、total RNA を抽出した。抽出した RNA は、Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies 社) を用いて RNA Integrity Number (RIN) が一定値以上のものを解析に使用した。次に、mRNA の精製、断片化、および ds cDNA の合成を行った。得られた cDNA ライブラリに対し、アダプター付加および PCR 増幅を行い、最終的な解析用ライブラリを構築した。構築したライブラリは、Illumina NovaSeq 6000 を使い、ペアエンド (150 bp × 2) でのシーケンシングを実施した。フタホシコオロギはゲノム情報が豊富ではないため、まず、取得したシーケンスデータに対し、FastQC を用いたクオリティコントロールおよびアダ

プター配列・低クオリティリードの除去を行い、解析に供する高精度なリードを選別した。次に、参照ゲノム欠如を補完するため、Trinity を用いた **de novo transcriptome assembly** を実行し、本種の遺伝子発現プロファイルの基盤となるコンティグ配列を構築した。得られた配列群に対しては、BLASTx 検索により既知タンパク質データベースとの相同性検索を行い、機能アノテーションを付与した。この構築したリファレンス配列に対し、各サンプルのリードをマッピングすることで発現量を定量化し、群間比較による **Differentially Expressed Genes (DEG)** の同定に至った。

現在同定した DEGs に対して解析を進めている。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究のようにフタホシコオロギの AMI 関連記憶形成関連因子が明らかとなれば、これまでの AMI 研究に新たな視点を示す可能性がある。AMI は種を超えて様々な動物種で観察される事象のため、本研究から得られた知見はヒトの軽度認知機能障害(MCI)の予防や治療の新薬の開発にも繋がると期待できる。

【4】 成果資料

本共同利用共同研究の成果の一部は、現在論文投稿準備中であり、さらに成果がまとまり次第論文発表を行う予定である。