



## ノックアウトコオロギを用いて学習のしくみを解明

### 研究成果のポイント

- ・ クリスピー・キャス 9 というゲノム編集技術を用いてドーパミン受容体 Dop1 のノックアウトコオロギの作成に初めて成功した。
- ・ Dop1 変異コオロギを用いた学習実験の結果, Dop1 受容体が罰情報を伝えるが報酬情報は伝えないことが分かった。
- ・ これはショウジョウバエでの報告とは異なっており, 昆虫の種間で学習の基本メカニズムに違いがあることが分かった。
- ・ 昆虫の種間での学習メカニズムの多様性がどのような進化史によって生まれたのか, 興味もたれる。

### 研究成果の概要

哺乳類や昆虫の学習において, モノアミン作動性ニューロンが報酬や罰の情報を伝えると考えられています。しかし, どの種の神経伝達物質や伝達物質受容体がそれを伝えるかについては不明な点が残されています。北海道大学の水波 誠教授のグループは, 徳島大学の三戸太郎助教のグループとの共同研究で, クリスピー・キャス 9 というゲノム編集技術を用いてドーパミン受容体 Dop1 が正常に働かないノックアウトコオロギの作成に成功しました。このコオロギは匂いと報酬との連合学習は正常でしたが, 匂いと罰との連合学習はできず, Dop1 が罰情報を伝えるが報酬情報は伝えないことが分かりました。これは動物の学習メカニズムの解明に大きく貢献する成果です。

### 論文発表の概要

研究論文名: Knockout crickets for the study of learning and memory: Dopamine receptor Dop1 mediates aversive but not appetitive reinforcement in crickets (ノックアウトコオロギを用いた学習・記憶研究: ドーパミン受容体 Dop1 は罰情報を伝えるが報酬情報は伝えない)

著者: 栗田ひろ子<sup>1</sup>, 渡辺崇人<sup>2</sup>, 浜中良隆<sup>1</sup>, 三戸太郎<sup>2</sup>, 野地澄晴<sup>2</sup>, 水波 誠<sup>1</sup> (1 北海道大学大学院理学研究院, 2 徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部)

公表雑誌: Scientific Reports

公表日: 日本時間 (現地時間) 2015 年 11 月 2 日 (月) 午後 7 時 (英国時間 2015 年 11 月 2 日 (月) 午前 10 時)

## 研究成果の概要

### (背景)

動物の連合学習において罰や報酬の情報を伝える仕組みについては古くから研究が行われ、ヒトを含めた哺乳類ではドーパミンニューロンが報酬や罰の情報を伝えることが分かっています。無脊椎動物では、私たちはフタホシコオロギを用いた薬理的な研究から、報酬情報はオクトパミンニューロンが伝え、罰情報はドーパミンニューロンが伝えることを示唆してきました。ところが最近、遺伝子組換えショウジョウバエを用いた研究により、報酬情報と罰情報の両方を、ドーパミンニューロンがドーパミン受容体 Dop1 を介して伝えると報告されました。このような食い違いが、研究方法の違いによるのか、あるいは昆虫の種間で学習のメカニズムに違いがあるのかを明らかにすることが本研究の目的です。

### (研究手法)

北海道大学の粟田ひろ子研究員と水波 誠教授らのグループは、徳島大学の三戸太郎助教のグループとの共同研究により、クリスパー・キャス9という新規ゲノム編集技術を用いてドーパミン受容体 Dop1 が働かないノックアウトコオロギを作成しました。キャス9 (Cas9) タンパク質は DNA 切断能力をもつ酵素で、Cas9 がガイド RNA と複合体をつくると、ガイド RNA 中の特定の塩基配列に相補的に結合するゲノムの場所を切断します。この性質を利用し、ゲノム中の特定の遺伝子に変異を起こさせ、その遺伝子が働かないようにすることができます。私たちは、Dop1 ドーパミン受容体遺伝子に変異が入るよう設計したガイド RNA を Cas9 の mRNA と一緒にコオロギの卵に注入しました。幼虫を育てて Dop1 遺伝子に変異のある個体を掛け合わせ、ホモ接合の Dop1 遺伝子変異コオロギの系統を得ました。

### (研究成果)

ドーパミン受容体 Dop1 が働かないノックアウトコオロギは、匂いと報酬 (水) との連合学習は正常でしたが、匂いと罰 (塩水) との連合学習ができませんでした。コオロギでは Dop1 が罰の情報を伝えますが、報酬の情報は伝えないと結論づけられました。これは、報酬情報と罰情報の両方が Dop1 を介して伝えるとされた遺伝子組換えショウジョウバエでの報告とは異なっており、コオロギとハエでは報酬情報を伝える伝達物質や受容体に違いがあることが分かりました。

従来、学習の基本メカニズムは昆虫の種を超えて保存されていると考えられてきましたので、コオロギとハエでは報酬情報を伝える神経伝達の仕組みが異なるという今回の発見は予想外のものです。その違いがどのような進化史により生じたのか、今後の研究が待たれます。

### (今後への期待)

コオロギは高度な学習能力をもち、その学習の仕組みには哺乳類とも共通点があります。たとえばヒトなどの哺乳類では、学習が「予想外の出来事が起こり、驚いた時」に起こるという「予測誤差」理論が提案されていますが、この理論がコオロギにも当てはまることを私たちは最近報告しています。今後、さらに遺伝子改変コオロギを用いた研究を進めることで、動物の学習・記憶の基本メカニズムの解明を加速できると期待されます。

## お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学大学院理学研究院 教授 水波 誠 (みずなみ まこと)

TEL : 011-706-3446 FAX : 011-706-3446 E-mail : mizunami@sci.hokudai.ac.jp

ホームページ : <https://www.sci.hokudai.ac.jp/~mizunami/MICROB~2/>