昆虫の記憶関連分子：ショウジョウバエの学習・記憶変異体の研究から

松本幸久・佐藤千尋*

「記憶」は移り変わる環境の中で動物が生き抜くために必要な脳神経系の基本機能である。一般的に記憶は保持時間の長さにより短期記憶と長期記憶に分類できる。これらの記憶の形成過程にはそれぞれ様々な生体分子が関与しており、便宜上それらを「記憶関連分子」と呼ぶ。昆虫は神経系を構成するニューロン数が比較的少ないわりに高度な学習・記憶能力を保持しているため学習・記憶の研究材料として適している。なかでもショウジョウバエは記憶関連分子についての報告が最も多くなされている昆虫である。本稿ではショウジョウバエの嗅覚学習・記憶に異常を示す突然変異体を例に挙げながら、昆虫の様々な記憶関連分子について紹介する。

1. はじめに

動物は感覚器を通して入ってきた様々な情報を、脳や中枢神経系に保存している過去の情報と照合して処理し、その結果適切な行動を起こす。脳などに保存している過去の情報を「記憶」、新しい情報の受容・処理による行動の変化を「学習」と呼ぶ。学習と記憶は様々な環境の中で動物が生き抜くために必要な脳神経系の基本機能で、複雑な神経系を持つ哺乳類はもちろん線虫のように単純な神経系をもつ生物でも必須であると考えられている。一般的に記憶は、学習のあと短時間(数分から数時間)で失われてしまう短期記憶と、数日または数年経っても保たれている長期記憶に分類できる。これまでに得られた様々な学習・記憶関連の研究結果から、短期記憶はニューロンの持続的な電気活動とイオンチャネルのリン酸化による既存のシナプスの伝達効率の変化によるものと考えられている。一方、長期記憶はタンパク質や mRNA の新規合成を必要とするイオンチャネルやシナプス小胞などの新規形成によるものと考えられている。これらタンパク質の合成やタンパク質のリン酸化などに必要な生体分子は、多様な生体機能に関わる分子であり記憶形成のみに関わるわけではない。しかし本稿では記憶への関わりについて解説する便宜上、学習・記憶形成のメカニズムに関わるこれらの生体分子のことを「記憶関連分子」と呼ぶ。

昆虫はニューロン数が比較的少なく神経系の構造も単純なわりに高度な学習・記憶能力を持っているため学習・記憶の研究材料として適している。現在キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster* : 以下ショウジョウバエと呼ぶ)、セイヨウミツバチ(*Apis mellifera*)、フタホシコオロギ(*Gullyrus bimaculatus*)、ワモンゴキブリ(*Peripraneta americana*)などの昆虫を材料に使った学習・

記憶の研究が活発にされている。中でも遺伝学や分子生物学のアプローチが容易なショウジョウバエでは、学習・記憶に異常のある突然変異体の単離・同定とその原因遺伝子の機能の解析により、数多くの記憶関連分子が同定されている。さらに近年、様々な遺伝子組み換え技術を用いた遺伝子の時空間的な発現制御による解析も加わり、学習・記憶形成機構の分子レベルでの研究が猛烈な勢いで進められている。筆者らはコオロギやゴキブリなどを用いて主に薬理行動学的なアプローチで学習・記憶の神経機構の研究を行っている。その研究成果の一部については以前本誌で解説した⁴³⁾。一方、ショウジョウバエの学習・記憶の研究は、英文での総説が多く出ているが^{10, 14, 39, 45, 66)}、和文での詳しい紹介記事はほとんどない。そこで本稿ではショウジョウバエの嗅覚学習と記憶に異常を示す突然変異体を例に挙げながら、ショウジョウバエの様々な記憶関連分子について詳しく紹介し、嗅覚学習・記憶形成機構の分子モデルについて解説する。

2. 嗅覚連合条件付けと匂い嗜好性テスト

ショウジョウバエの学習訓練方法はいくつかあるが、ここでは最も一般的な「匂いと電気ショックの古典的連合条件付け」⁶⁸⁾の手順について説明する。古典的連合条件付け訓練では銅線を内側に巻いた訓練用試験管に約100匹のショウジョウバエを入れて、最初に「A」の匂いを流しながら60秒間電気ショックを与える(図1の訓練)。次に45秒間の間隔を置いて、今度は「B」の匂いを流すが、このときには電気ショックは与えない。この試行を1回だけ行うのを single trial (1回訓練)、間隔をあけずに数回繰り返す訓練を massed training、15分間隔で数回繰り返す訓練を spaced training という。また別のグループのショウジョウバエには「B」の匂いを流しながら電気ショックを与え、「A」の匂いを流すときには電気ショックを与えない訓練を行う。匂いの嗜好性テストでは2つの試験管がつながった匂い刺激装置にショウジョウバエを移す(図1のテスト)。この装置では両側の試験管からそれぞれ A と B の匂いが流れてくるので、テスト時に A と B のそれぞれの匂いの試験管にいるショウジョウバエの数を数える。2つのグループの匂い嗜好性を比較して訓練の効果を評価すると、正常なショウジョウバエは訓練後には電気ショックと連合させた匂いを避けるようになる。

電気ショック刺激はショウジョウバエに忌避行動を引き起こすため、上記の古典的連合条件付けを「匂いと電気ショックの罰条件付け」と呼ぶこともある。近年、電気ショック

*Yukihisa MATSUMOTO and Chihiro SATO, 東北大学大学院生命科学研究所(〒980-8577 宮城県仙台市青葉区片平2-1-1)

図1 匂いと電気ショックの古典的連合条件付け
訓練では約100匹のショウジョウバエを訓練用試験管の中に入れて、2つの匂い(匂いA, 匂いB)のうちの1つを流した時に電気ショックを与える。テストでは2つの匂いを同時に流し、それぞれの匂いの試験管にいるショウジョウバエの数を数える。文献⁽⁴⁵⁾を改変。

の代わりにショウジョウバエに誘引行動を引き起こす砂糖水を用いた条件付けもしくはしばしば使われており⁽⁶¹⁾、その古典的連合条件付けを「匂いと砂糖水の報酬条件付け」と呼ぶ。

3. 突然変異体誘発法

以前、ショウジョウバエの学習記憶変異体の研究は突然変異誘発、行動解析による学習記憶変異体の単離、遺伝子座の解析と遺伝子産物の同定という流れで進められていた。ショウジョウバエに突然変異を誘発させる手段として、まず化学的な突然変異誘発物質であるエチルメタンスルホン酸(EMS)が用いられた。70年代後半にEMSにより突然変異誘発を起こした約4000の系列について嗅覚オペラント条件付け後の学習・記憶に異常があるかどうか調べられ、6つの学習・記憶の突然変異系統 *dunce*, *rutabaga*, *radish*, *cabbage*, *turnip*, *amnesiac* が単離された^(17, 59)。EMSは高確率で突然変異を誘発できるという利点を持つ。しかしゲノム上の複数の箇所に変異を起こすことが多いため、表現型の原因遺伝子の同定が難しいという欠点がある。

次に行われたのが転移因子トランスポゾン的一种であるP因子をランダムに遺伝子に挿入するという方法である。P因子が挿入された場所ではその遺伝子の機能が失われる。この方法ではP因子に分子タグを付けることで突然変異がゲノム上のどこで起きているのかを同定できるという利点がある。またトランスポゼーゼの働きによりP因子を取り除くことで表現型の回復を調べられることも利点である。このP因子を介した突然変異誘発選別で同定された変異系統には *latheo*, *linotte*, *nalyot* などがある

る^(1, 11, 19)。また逆の発想で、P因子をベクターとして用いることで目的の遺伝子を特定のニューロンに導入・発現させる方法も使われている。例えば、ある学習変異体の表現型が野生型のその原因遺伝子の導入・発現によりレスキューできるかを確認する実験などである。

さらに、P因子突然変異誘発に組織学的な要素を取り入れたエンハンサー検出(enhancer detection)という方法がある。このエンハンサー検出法は、レポーター遺伝子をつけたP因子がゲノムに挿入されることで、内因性のエンハンサーによりレポーター遺伝子の発現が増強される、という性質を利用したものである^(49, 70)。また、遺伝子のエクソン領域など、P因子の挿入箇所によってはエンハンサーが本来駆動するはずの遺伝子の機能が失われることもある。また、その遺伝子が発現していると予想される領域は、レポーター遺伝子にGFP(緑色蛍光タンパク質)などを用いることで組織学的に確認できる。

ところで昆虫の脳には嗅覚学習・記憶の場と考えられているキノコ体という領域がある。キノコ体は昆虫の前脳に一对存在し、情報の入力部位である傘部、情報の出力部位である葉部、傘部と葉部をつなぐ柄部からなる。またショウジョウバエのキノコ体の葉部はさらに5つの部位(葉、葉、葉、葉、葉)に分けられる。90年代にエンハンサー検出法でキノコ体に特異的に発現する系統について嗅覚古典的条件付けが行われ、いくつかの学習・記憶の変異系統が単離された。それらには *DCO*, *leonardo*, *Volado*, *Fasciclin 2* などがある^(5, 29, 32, 63, 64)。

近年、哺乳類の学習・記憶の研究で解析が進んでいた遺伝子をRNA干渉法(RNAi法)やアンチセンスRNA法などで選択的に破壊する逆遺伝学的手法も行われるようになってきた^(55, 71, 72)。RNAi法とは、2本鎖RNAを細胞内に導入するとそれと相補的な塩基配列を持つmRNAが分解されるという現象を利用して、任意の遺伝子の発現を抑制する手法である。また、RNAi法の一つとも考えられているアンチセンスRNA法は通常のmRNAに相補的な1本鎖RNA(アンチセンスRNA)を細胞内に導入する方法である。RNAi法とアンチセンスRNA法はともに、塩基配列はわかっているが機能がよく調べられていない遺伝子の生理的役割を解析する方法である。

4. 記憶の相

記憶の保持時間は学習訓練の回数やその間隔などで異なることが知られている⁽⁶⁷⁾。ショウジョウバエでは、1回訓練またはmassed trainingによって引き起こされる記憶は、それぞれ訓練の1日後と4日後にはほとんどなくなってしま⁽⁶⁷⁾。一方、spaced trainingにより引き起こされる記憶は少なくとも訓練の7日後まで残っている⁽⁶⁷⁾。

訓練後の記憶は性質の異なるいくつかの記憶の相からなり、1回訓練またはmassed training後の記憶には出現の早いほうから短期記憶、中期記憶、麻酔耐性記憶の3つがある(図2)。一方、spaced trainingにより引き起こされる記憶はこれら3つの記憶とその後に続く長期記憶である。短期記憶と中期記憶とをあわせて麻酔感受性記憶と呼ぶこともある。また麻酔耐性記憶と長期記憶を固定された記憶(consolidated memory)と呼ぶこともある。以下にそれぞれの記憶の相の特徴について述べる。

4 - 1. 麻酔耐性記憶

一般的に学習直後の記憶は不安定で外からの攪乱に弱いことが知られており、昆虫においても学習直後に低温麻酔などの攪乱刺激を与えると学習した内容が記憶として定着しないことが示されている^{20, 58)}。しかし訓練から少し時間が経てば記憶は固定され、攪乱の影響を受けなくなる。そこで学習訓練後のどの時期に記憶が固定されるのかを調べる目的で、Tully らはショウジョウバエの学習訓練後いろいろなタイミングで2分間の低温麻酔を行い、訓練の3時間後に記憶をテストした⁶⁷⁾。横軸に訓練から低温麻酔を行うまでの時間をとり縦軸に記憶テストのスコアをプロットしていくと、訓練直後に麻酔を行った場合ではほとんど記憶がみられなかった⁶⁷⁾。しかし訓練から麻酔までの時間が長くなるにつれ記憶のレベルは上昇し、1時間で最大となりそれ以降変わらなかった⁶⁷⁾。この固定された記憶の成分を麻酔耐性記憶という(図2のARM)。massed trainingの1日後の記憶は全て麻酔耐性記憶である。また麻酔耐性記憶の定義としてタンパク質合成に依存しない記憶であるということも付け加えておく。また、*radish* という遺伝子の突然変異体ではこの麻酔耐性記憶が特異的に欠損している²³⁾。

4 - 2. 中期記憶

野生型のショウジョウバエにおいて、訓練の2時間後では麻酔耐性記憶のレベルは飽和しているが、それとほぼ同じレベルの麻酔感受性の記憶成分が存在する⁶⁷⁾。この麻酔感受性記憶成分は訓練直後に最大で、数時間かけて減衰していく⁶⁷⁾。また麻酔感受性記憶成分はさらに短期記憶と中期記憶(図2のSTMとMTM)の2つに分けられるということが *amnesiac* (*amn*) 突然変異体と野生型ショウジョウバエの記憶曲線の比較²³⁾ と、逆転学習の記憶曲線のプロット¹⁶⁾ という2つの手法で証明された。*amn* 変異体と野生型の訓練直後から8時間後までの記憶曲線を比較した場合、訓練直後と8時間後では両者は同じレベルであった²⁶⁾。しかし訓練2時間後から6時間後では *amn* 変異体の記憶は野生型の約半分のレベルにまで下がった²⁶⁾。*amn* 変異体の訓練2時間後の記憶はすべて麻酔耐性記憶であったため、訓練2時間後の時点では *amn* 変異体は麻酔感受性記憶を完全に消失していたといえる。野生型のショウジョウバエの記憶曲線から *amn* 変異体の記憶曲線を引いた記憶の成分を中期記憶と呼ぶ。

4 - 3. 短期記憶

短期記憶は野生型の訓練後の記憶曲線から上記の中期記憶と麻酔耐性記憶の成分を引いたもので表され、訓練直後から現れて訓練の1時間後には完全になくなる記憶である(図2のSTM)。*rutabaga* (*rut*) 変異体や *dunce* (*dnc*) 変異体では記憶のレベルが訓練直後から急激に低下し、数十分後にはほとんど消失する¹⁶⁾。またこれらの変異体の記憶曲線は *amn* 変異体の記憶曲線と比べても有意に早く低下するので、*rut* 変異体や *dnc* 変異体は短期記憶の変異体であるといわれている¹⁶⁾。

4 - 4. 長期記憶

何日も保持される記憶にはタンパク質や mRNA の新規合成が関与していることが知られている⁴⁴⁾。このタンパク

質合成依存の記憶を長期記憶という。ショウジョウバエの長期記憶は spaced training により引き起こされるが massed training では形成されない(図2のLTM)。この長期記憶は、spaced training の前後にタンパク質合成阻害剤のシクロヘキシミドをショウジョウバエに食べさせ、その後に阻害された記憶の成分として示された⁶⁷⁾。長期記憶は spaced training の24時間以内には出現し、少なくとも訓練の7日間までは残っている。spaced training の24時間後に観察される記憶にはこの長期記憶と麻酔耐性記憶がほぼ同じレベルで共存しており^{67, 74)}、訓練4日以降に観察される記憶はすべて長期記憶である⁶⁷⁾。

5. 学習・記憶に関わる遺伝子とその変異体

ショウジョウバエの記憶関連分子は多くの場合、学習・記憶の突然変異体の単離とその原因遺伝子の機能解析により同定されている。すなわちそれらの遺伝子産物(タンパク質、ペプチドなど)が記憶関連分子であると言い換えることができる。ここでは学習・記憶変異体の原因遺伝子を例に挙げながら記憶関連分子を紹介していく。またそれらの変異体がそれぞれどの記憶の相に異常を持つものであるかを4つのカテゴリー(学習・短期記憶、中期記憶、麻酔耐性記憶、長期記憶)に分けて示している。変異体によっては学習と長期記憶の両方に異常が見られるものがあるが(*Nf1* 変異体、*nebula* 変異体など)、本稿ではそれらを長期記憶の変異体として紹介する。

5 - 1. 学習・短期記憶に関わる遺伝子

5 - 1 - 1. *dunce* (*dnc*)

ショウジョウバエの学習・記憶の変異体として最初に単離されたのは *dunce* (*dnc*) 変異体である¹⁷⁾。*dnc* は cAMP ホスホジエステラーゼをコードしている⁴⁾。*dnc* 変異体では嗅覚連合条件付け直後の学習と短期記憶に異常がみられ、この変異体に野生型のショウジョウバエの *dnc* 遺伝子を

図2 ショウジョウバエの嗅覚学習の記憶の相

太い実線は間隔をあけた数回の訓練(spaced training)により形成された記憶を示している。太い破線は間隔をあけない数回の訓練(massed training)により形成された記憶を示している。記憶の相は出現の早いほうから短期記憶(short-term memory: STM)、中期記憶(middle-term memory: MTM)、麻酔耐性記憶(anesthesia resistant memory: ARM)、長期記憶(long-term memory: LTM)の4つに分けられる。文献¹⁴⁾を改変。

発現させると学習・記憶の異常が回復する⁹⁾。また、免疫組織化学と RNA *in situ* ハイブリダイゼーションの実験により、DNC タンパク質や *dnc* RNA の高い発現が野生型ショウジョウバエの脳のコノコ体において確認されている⁴⁸⁾。

5 - 1 - 2. *rutabaga* (*rut*)

次に単離された学習・記憶の変異体は *rutabaga* (*rut*) 変異体である。*rut* は Ca^{2+} /カルモジュリン(CaM)と G_s タンパク質の両方で制御される 1 型アデニル酸シクラーゼ(cAMP の合成酵素)をコードしている³⁶⁾。*rut* 変異体では *dnc* 変異体と同様に学習と短期記憶に異常がみられ、この変異体のコノコ体に *rut* 遺伝子を発現させると学習・記憶の異常が回復する⁷⁷⁾。また、RUT タンパク質や *rut* RNA が野生型ショウジョウバエのコノコ体において強く発現していることが示されている³²⁾。*rut* アデニル酸シクラーゼは Ca^{2+} /CaM と G_s タンパク質の両方で制御されるため、条件刺激(ここでは匂い刺激)と無条件刺激(ここでは電気ショック刺激)の同時発生的な収斂の分子検知器として機能しているという仮説が提唱されている³²⁾。

5 - 1 - 3. *DCO*

cAMP の主な標的タンパク質の 1 つは cAMP 依存プロテインキナーゼ(PKA)である。PKA は 2 つの触媒サブユニットと 2 つの調節サブユニットからなる。*DCO* と名付けられた遺伝子(正式には *Pka-CI*)は PKA の触媒サブユニットをコードしている⁶³⁾。*DCO* 変異体では 1 回訓練直後の記憶が対照群の 50% まで低下する⁶³⁾。*DCO* 変異体と対照群との訓練直後から 3 時間までの記憶曲線の比較により、*DCO* 変異体は学習と短期記憶の両方に異常を持つと結論づけられている⁶³⁾。

5 - 1 - 4. *latheo* (*lat*)

latheo (*lat*) は DNA の複製を正確に開始するタンパク質である複製開始点認識複合体のサブユニットをコードしている⁵³⁾。*lat* 変異体では発達に伴う脳の欠損が見られ、例えば 3 齢幼虫においてコノコ体の大きさが野生型の 3 分の 1 以下に減少する⁵³⁾。また *lat* 変異体では 1 回訓練の直後の記憶が野生型の約 60% に低下している¹⁾。*lat* 変異体の訓練直後から 6 時間後までの記憶曲線の形は野生型のそれと変わらないことから、*lat* 変異体は短期記憶の異常というよりもむしろ学習の異常であると結論づけられている¹⁾。

5 - 1 - 5. *linotte* (*lio*)

linotte (*lio*) 遺伝子産物が何であるかに関しては論争があるが、脳の発達過程において重要な働きを持つ受容体型チロシンキナーゼであるという説^{46), 62)}が有力である。*lio* 変異体は 1 回訓練の直後の記憶が野生型の約 75% に低下する学習の変異体である¹⁹⁾。また、*lio* とは別に単離・同定された *derailed* (*drl*) という遺伝子が受容体チロシンキナーゼをコードしていることが既に報告されている²⁾。*lio* 変異体ではコノコ体を含めた脳構造の発達異常が観察されるが、*lio* 変異体に *drl* 遺伝子を発現させるとその異常は回復する⁴⁶⁾。

5 - 1 - 6. *Volado* (*Vol*)

細胞接着分子の 1 つであるインテグリンは、主に細胞外マトリックスへの細胞接着、細胞外マトリックスからの情報伝達に關与する。インテグリンは 鎖と 鎖の 2 つのサブユニットからなり、*Volado* (*Vol*) と名付けられた遺伝子(正式には *scab*) がインテグリンの 鎖をコードしている。*Vol* 変異体では 1 回の訓練直後の記憶が野生型と比べて約 50% 低下する²⁹⁾。*Vol* 変異体は学習と短期記憶の変異体で、この変異体に訓練直前に *Vol* 遺伝子を発現させると学習・記憶の異常が十分に回復する²⁹⁾。また、VOL タンパク質は幼虫の神経筋接合部においてシナプス伝達や可塑性を調整することが示されている⁶⁰⁾。

5 - 1 - 7. *Fasciclin 2* (*Fas2*)

ファシクリン 2 はインテグリン(*Vol*)とは別の細胞接着分子である免疫グロブリン・スーパーファミリーに属する膜貫通型タンパク質である。ファシクリン 2 をコードする遺伝子 *Fasciclin 2* (*Fas2*) の変異体では *Vol* 変異体と同様に学習と短期記憶に異常がみられ、この変異体の学習・記憶の異常は訓練前に *Fas2* 遺伝子を発現されることで十分に回復できる⁵⁾。また、FAS2 タンパク質はコノコ体の柄部と / 葉で強く、葉で弱く発現しているが、ケニオン細胞と ' / ' 葉では全く発現していない⁵⁾。ちなみに *Fas2* は *Aplysia* の神経可塑性に關与するとされている *Aplysia* 細胞接着分子(apCAM) のホモログである⁴⁰⁾。

5 - 1 - 8. *Synapsin* (*Syn*)

シナプシンは脊椎動物において神経突起の伸長、シナプス形成、シナプス放出の調整などを含む様々な機能を持つシナプス小胞関連リンタンパク質である²²⁾。ショウジョウバエでは *Synapsin* (*Syn*) 遺伝子はほとんどのシナプス終末で発現している。*Syn* 変異体では 1 回訓練の直後の記憶が野生型のハエの約 75% に減少する²⁶⁾。この結果は学習が神経伝達物質の放出レベルで調節されているという可能性を示唆している。ただし脳の構造や電気刺激に対するシナプス伝達については *Syn* 変異体と野生型との間で明瞭な差はみられなかった²⁶⁾。

5 - 1 - 9. *leonardo* (*leo*)

14-3-3 タンパク質は進化的に保存された細胞質ゾルのタンパク質で全ての真核細胞に存在し、キナーゼ、ホスファターゼ、膜貫通型受容体などを含む多種多様なシグナルタンパク質と結合する性質を持つ⁶⁵⁾。*leonardo* (*leo*) と名付けられた遺伝子(正式には 14-3-3) が 14-3-3 タンパク質ファミリーのアイソフォームをコードしている。*leo* 変異体は 1 回の訓練直後の記憶が野生型と比べて約 30% 低い学習の異常を示す⁶⁴⁾。また LEO タンパク質はコノコ体全体、特に葉部で強く発現している⁶⁴⁾。*leo* 変異体の学習の異常はコノコ体において *leo* 遺伝子を発現させることで十分に回復する⁵²⁾。またショウジョウバエでは 14-3-3 タンパク質は Raf(MAPKKK: MAP キナーゼ(MAPK)系の構成因子)や PKC と結合することが知られている⁶⁵⁾。このことから 14-3-3 タンパク質は MAPK 系(Ras/Raf/MAPK)や PKC などのシグナル伝達経路を介して学習に關与していることが示唆される。

5 - 1 - 10. *Tbh/pale (ple)*

無脊椎動物の主要な生体アミンの1つであるオクトパミンの生合成にはチラミン 水酸化酵素(tyramine - hydroxylase: TH)が必要である。TH をコードしている *Tbh* 遺伝子の突然変異体では匂いと砂糖水の報酬条件付け直後の記憶がほとんど消失している⁶¹⁾。一方、匂いと電気ショックの罰条件付けによる記憶は正常である⁶¹⁾。この *Tbh* 変異体の報酬学習の異常は、野生型 *Tbh* 遺伝子を発現させるか、または訓練前にオクトパミンを与えることにより十分回復できる⁶¹⁾。

一方、ドーパミンの生合成にはチロシン水酸化酵素(tyrosine hydroxylase: TH)が必要である。ショウジョウバエでは *pale (ple)* という遺伝子が TH をコードしている。ところでシナプス小胞再利用に必要なダイナミン GTP アーゼをコードしている *shibire* という遺伝子があるが、この温度感受性導入遺伝子 *shibire^{ts}* を強制発現させることで特定のニューロンのシナプス放出を阻害するという方法がある³⁵⁾。この *shibire^{ts}* を TH-陽性ニューロンで発現させたハエにおいて、訓練中にそのニューロンからのシナプス伝達を阻害してやると、罰条件付けの直後の記憶がほとんど消失する⁶¹⁾。一方、報酬条件付けによる記憶は全く影響を受けない。以上の結果からショウジョウバエの学習において、オクトパミン作動性ニューロンが報酬情報を、ドーパミン作動性ニューロンが罰情報を伝えると結論づけられている⁶¹⁾。

5 - 2. 中期記憶に関わる遺伝子

5 - 2 - 1. *amnesiac (amn)*

amnesiac (amn) は哺乳類の神経ペプチドの1つである下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド(PACAP)のホモログをコードしている²¹⁾。*amn* 変異体では訓練30分後から数時間程度の中期記憶に異常がみられる。一方、麻酔耐性記憶は正常である²³⁾。AMN タンパク質は、キノコ体の近くに一对存在し軸索をキノコ体の葉部だけに投射している dorsal paired medial (DPM) ニューロンでのみ発現している⁶⁹⁾。DPM ニューロンにおいて *amn* 遺伝子を発現させることで *amn* 変異体の記憶の異常は十分に回復できる⁶⁹⁾。また、*shibire^{ts}* 遺伝子を DPM ニューロンで発現させたショウジョウバエでは、訓練からテストの間でシナプス放出を阻害した場合において *amn* 変異体と同様の中期記憶の異常がみられる⁶⁹⁾。このことは中期記憶の形成には訓練から読み出しまでの間における DPM ニューロンからのシナプス放出が必要であることを示している。

5 - 3. 麻酔耐性記憶に関わる遺伝子

5 - 3 - 1. *radish (rsh)*

radish (rsh) 変異体は麻酔耐性の記憶成分に異常を示す²³⁾。また、*rsh* 変異体では massed training の24時間後の記憶が完全に消失すること⁶⁷⁾、*rsh* 変異体に spaced training の前後でシクロヘキシミドを与えると訓練24時間後の記憶が完全に消失すること⁶⁷⁾ も *rsh* 変異体が麻酔耐性記憶の変異体であることを支持している。*rsh* についてはホスホリパーゼ A2をコードしている *cl33* という説⁶⁾と、未知の遺伝子 CG15720であるという最近の説²⁴⁾の2つの説がある。後者の実験では *rsh* 変異体に CG15720遺伝子を発現させると麻酔耐性記憶の異常が回復することが

示されている²⁴⁾。また、RSH タンパク質がキノコ体の傘部、柄部、葉部と、中心複合体の構成部分の1つである橋円体で特に強く発現していることも確認されている²⁴⁾。

5 - 3 - 2. *aPKC*

プロテインキナーゼ C(PKC)は活性化機構の違いにより3つのサブタイプ(通常型、新規型、非定型)に分けられる。その中で活性化のためにホスファチジルセリンを必要とするがジアシルグリセロールや Ca^{2+} を必要としないタイプを非定型 PKC (atypical PKC: aPKC)と呼ぶ。さらに aPKC の調節ドメインが外れて活性化しているもの(触媒断片)を aPKM と呼ぶ。ショウジョウバエ *aPKM* 遺伝子またはマウスの *aPKM* 遺伝子を1回訓練の30分後~60分後に発現させたショウジョウバエでは、訓練の24時間後の記憶が増強される¹³⁾。一方、これらの遺伝子を訓練前に誘導した場合は記憶の増強効果が見られない。すなわち学習訓練の後に aPKM が働くことが記憶の増強に重要であるといえる¹³⁾。また *aPKM* 遺伝子の過剰発現により massed training の4日後の記憶の増強効果が観察されている¹³⁾。さらに、野生型のハエに PKC 阻害剤ケレリスリンを与える、もしくはショウジョウバエ *aPKM* の dominant-negative な発現を行うと、massed training の24時間後の記憶が阻害される¹³⁾。これらの結果は全て aPKM が麻酔耐性記憶に関与していることを示唆している。また、*radish* 変異体においても *aPKM* 遺伝子の過剰発現による記憶の増強効果が同様に観察されている¹³⁾。すなわち麻酔耐性記憶の形成過程において aPKM が RSH タンパク質の下流で機能していることが示唆される。

5 - 4. 長期記憶に関わる遺伝子

5 - 4 - 1. *dCREB2*

PKA の主なリン酸化反応の標的の1つは転写因子の CREB(cAMP 応答配列結合タンパク質)である。Yin らによってクローニングされたショウジョウバエの *CREB* はいくつかのアイソフォームをコードしている^{75, 76)}。アイソフォームの1つである *dCREB2-b* 遺伝子の産物は CREB による転写を抑制する負の CREB として働く。*dCREB2-b* 遺伝子を発現させたショウジョウバエではタンパク質合成依存の長期記憶だけが特異的に阻害される⁷⁴⁾。また別のアイソフォームである *dCREB2-a* を発現させると長期記憶形成が増強されたため、*dCREB2-a* は CREB 活性化タンパク質をコードしていると予測された^{75, 76)}。しかし最近 Perazzona らによって *dCREB2-a* による長期記憶の増強効果が再現できないことが報告された⁵¹⁾ため、CREB 活性化タンパク質の長期記憶形成における役割は不明瞭になっている。

5 - 4 - 2. *Adf1*

P 因子挿入突然変異の行動選別で単離された *nalyot* 変異体は Myb 様転写因子をコードする遺伝子 *Adf1* の変異体である¹¹⁾。Myb は C/EBP などの転写因子と協調的に働き、一群の標的遺伝子の転写を誘導する。*nalyot* 変異体は1回訓練の直後の記憶が野生型の約70%に低下した学習の異常を示す¹¹⁾。一方、長期記憶にも異常がみられる¹¹⁾。また *nalyot* 変異体の幼虫では神経筋接合部のシナプス前構造であるシナプスボタンの数が減少するにもかかわらず、

シナプス伝達自体は正常であることが観察されている¹¹⁾。長期記憶形成の基礎となるシナプス可塑性にはシナプス結合の構造的な変化と機能的な変化が必要であろうが、前者を Myb 様転写因子が、後者を CREB が担っているのかもしれない。

5 - 4 - 3. *staufen(stau)/pumilio(pum)*

mRNA の局在化や翻訳に関わるタンパク質をコードするいくつかの遺伝子が2つの異なる方法を用いて選別されている^{14, 15)}。1つは長期記憶が形成される条件下において、訓練後に発現量が上昇した遺伝子を DNA マイクロアレイにより網羅的に同定する方法^{14, 15)}。もう1つは P 因子挿入突然変異体群において嗅覚古典的条件付け後の長期記憶だけに異常を示す変異体を行動選別する方法である^{14, 15)}。両方のアプローチで同定された遺伝子には *pumilio (pum)*: mRNA の翻訳制御に関与)がある。DNA マイクロアレイで同定された遺伝子には *staufen (stau)*: mRNA の輸送に関与), *Moesin (stau)* の局在化に関わるアクチン結合タンパク質), *orb* (局在化 mRNA の翻訳に関わる CPEB のホモログ), *eIF-2G* (CPEB 依存の翻訳に関わる翻訳開始因子)などがある。行動選別によって同定されたものには *oskar (osk)*: *stau* 依存の mRNA 輸送に関与)や *eIF-5C* (翻訳開始因子)がある。これらのうち *stau*, *pum*, *oskar*, *eIF-5* の変異体では長期記憶に異常がみられる^{14, 15)}。これらの結果は、長期記憶の形成過程において mRNA の局在化や局所的なタンパク質の合成が重要であるという従来の考え⁴¹⁾を支持するものである。

5 - 4 - 4. *yu*

yu は細胞内での PKA の局在化に関わるアンカータンパク質(AKAP)をコードしている。*yu* 突然変異体は長期記憶の異常を示すが、*yu* 遺伝子をキノコ体に発現させることで記憶の異常が回復できる³⁷⁾。また YU タンパク質が野生型のキノコ体の傘部や葉部、特に ' / ' 葉において強く発現していることが確認されている³⁷⁾。PKA 変異体のヘテロ接合体や *yu* 変異体のヘテロ接合体では spaced training の1日後の長期記憶が正常であるが、PKA と *yu* のダブルヘテロ接合体では長期記憶が有意に減衰する³⁷⁾。この結果から長期記憶の形成において AKAP と PKA が同じ cAMP シグナル経路で機能していることが示唆される。

5 - 4 - 5. *nebula (nla)*

近年、ヒトの精神発達遅滞(知的障害)のメカニズムの理解を促す目的でショウジョウバエの変異体を用いた研究が盛んに行われている。ヒトのダウン症関連遺伝子の1つである *Dscr1* (Down's Syndrome critical region 1) の遺伝子産物カルシプレッシンは、マウスの学習・記憶に関わるとされているカルシニューリン(Ca^{2+} /CaM 依存プロテインホスファターゼ)を抑制することが知られている³⁸⁾。*Dscr1* のショウジョウバエのホモログである *nebula (nla)* の突然変異体では、1回の訓練直後の記憶において強い阻害(野生型の約40%のスコア)がみられる³¹⁾。また *nla* 変異体では長期記憶にも異常がみられる³¹⁾。さらに *nla* 変異体ではカルシニューリン活性レベルの増加に加え、PKA 活性の低下、リン酸化 CREB の減少が観察されてい

る³¹⁾。*nla* 変異体でみられる学習と長期記憶の異常はそれぞれ PKA と CREB を介した機構の機能低下による可能性が示唆される。

5 - 4 - 6. *Neurofibromin 1 (Nf1)*

ヒトの遺伝子疾患の1つである神経線維腫症1型は皮膚や脳神経系に腫瘍が生じる病気で、学習異常を引き起こすこともある。その原因遺伝子である *Neurofibromin 1 (Nf1)* の遺伝子産物は GTP アーゼを活性化するタンパク質(Ras-GAP)で、Ras(MAPKKKK: MAPK 系の構成因子)を抑制する⁷³⁾。さらにショウジョウバエの *Nf1* 遺伝子産物は PACAP ペプチドによる *rut* アデニル酸シクラーゼの活性にも必要である³⁰⁾。*Nf1* 突然変異体では1回訓練後の学習が強く阻害され(対照群の50%のスコア)^{31, 33)}、また spaced training の24時間後の長期記憶も阻害される³³⁾。これらの学習と長期記憶の異常は、野生型の *Nf1* 遺伝子またはヒト由来の *Nf1* オーソログを発現させることで回復できる。NF1タンパク質は Ras の制御に関わるドメイン(GAP 関連ドメイン)と、アデニル酸シクラーゼの活性に必要なドメイン(C-末端ドメイン)を持っている。*Nf1* 変異体に *Nf1* 遺伝子の一部分だけを発現させる実験において、GAP 関連ドメインを発現させた場合では長期記憶だけの回復が、一方 C-末端ドメインを発現させた場合では学習だけの回復が観察されている³³⁾。この結果は NF1 タンパク質の GAP 関連ドメインが長期記憶形成に必要で、C-末端ドメインが訓練直後の記憶に重要であることを示唆している。すなわち同じタンパク質の2つの異なる機能のドメインがそれぞれ別々の2つの記憶成分の形成に関わっているといえる。またこの結果から MAPK 系(Ras/Raf/MAPK)が長期記憶の形成に関わっている可能性も示唆されている。

5 - 4 - 7. *Notch (N)*

Notch は元々ショウジョウバエの羽の形態異常を起こす突然変異として知られている。*Notch* は膜貫通型の受容体で、細胞間相互作用を介した細胞運命の決定に関わっている。*Notch* 受容体の細胞外ドメインに膜タンパク質 Delta が結合するとセクレターゼによって細胞内ドメインが切り離され、それが核へ移行し転写を制御する。*Notch* 変異体、もしくは RNAi 法でキノコ体の *Notch* を失活させたショウジョウバエでは長期記憶だけが特異的に阻害される^{25, 55)}。また、*Notch* の過剰発現により長期記憶の増強がみられるが、この増強効果はタンパク合成阻害剤によってブロックされる²⁵⁾。すなわちキノコ体における *Notch* シグナルが長期記憶形成に関与していることが示唆される。ただし、長期記憶形成における *Notch* 活性の調節機構や *Notch* シグナルの下流への効果はよくわかっていない。

5 - 4 - 8. *neuralized (neur)*

neuralized (neur) はタンパク質のユビキチン化に関わるユビキチン転移酵素をコードしている。NEUR タンパク質はショウジョウバエの神経発生において、細胞運命決定の際の *Notch* シグナリングの調節に重要であるとされている。*neur* 変異体では1回訓練の24時間後の記憶が対照群と比べて有意に低い⁵⁰⁾。また、キノコ体 / 葉の周辺

ニューロンにおいて *neur* 遺伝子を過剰発現してやると 1 回訓練の 24 時間後の記憶の増強が見られる⁵⁰⁾。一方、 / 葉の内側での過剰発現では記憶の増強がみられないことから、NEUR タンパク質による記憶の増強効果は / 葉の周辺ニューロンに局限できることが示唆される⁵⁰⁾。

5 - 4 - 9. *crammer* (*cer*)

crammer (*cer*) 遺伝子産物はカテプシン (システインプロテアーゼの一種) の活性を抑制するタンパク質である。*cer* 遺伝子はキノコ体ニューロンとその周辺のグリア細胞で発現している。*cer* 変異体は長期記憶だけに異常がみられるが、*cer* 遺伝子を発現させるとその記憶の異常が回復する⁷⁾。ただし過剰な発現ではむしろ長期記憶の阻害がみられる⁷⁾。さらに野生型ショウジョウバエにおいて、*cer* 遺伝子を脳のグリア細胞で過剰発現すると長期記憶が阻害されるのに対し、キノコ体での過剰発現では異常が全くみられない⁷⁾。これらの結果はグリア細胞における *cer* が長期記憶形成に関わっている可能性を示唆している。また、野生型ショウジョウバエでは spaced training の 3 時間後に *cer* mRNA 量の一時的な著しい減少が観察されている⁷⁾。このことからカテプシン活性の一時的な上昇が長期記憶形成に関与している可能性が示唆される。

5 - 4 - 10. *Tequila* (*Teq*)

Tequila (*Teq*) はヒトのニューロトリプシン (セリンプロテアーゼの一種) のオソログをコードしている¹²⁾。*Teq* 変異体、もしくは RNAi 法でキノコ体の *Teq* の発現を阻害したショウジョウバエでは長期記憶が特異的に阻害される¹²⁾。また野生型ショウジョウバエのキノコ体ケニオン細胞において、spaced training の 4 時間後に *Teq* mRNA 量の上昇が観察されている¹²⁾。

5 - 4 - 11. *Ptp10D*

チロシンホスファターゼはチロシンキナーゼとともにチロシンのリン酸化レベルを調整する酵素で、受容体型と細胞質型にわけられる。*Ptp10D* は受容体型チロシンホスファターゼをコードしている。PTP10D タンパク質はショウジョウバエの脳全体で発現しており、キノコ体と中心複合体で特に強い発現が観察されている⁵⁷⁾。*Ptp10D* に P 因子が挿入された *chi* 変異体では訓練 1 日後の長期記憶が特異的に阻害される⁵⁷⁾。また、この *chi* 変異体の記憶の異常はキノコ体に *Ptp10D* 遺伝子を発現させることで回復できるが、中心複合体での発現では回復がみられない⁵⁷⁾。

5 - 4 - 12. *Nmdar1*, *Nmdar2*

マウスでは NMDA (N-メチル-D-アスパラギン酸) 型グルタミン酸受容体がシナプス可塑性や学習・記憶に重要な働きを持つことが知られている⁵⁴⁾。ショウジョウバエでは NMDA 型受容体のホモログである *Nmdar1* と *Nmdar2* が同定されている。アンチセンス RNA 法により脳の NMDA 型受容体の機能を抑えたショウジョウバエでは長期記憶が特異的に阻害される⁷²⁾。また、RNAi 法を用いて *Nmdar1* または *Nmdar2* の 2 本鎖 RNA を中心複合体の構成部分の 1 つである楕円体で発現させてやると、いずれも長期記憶だけが特異的に阻害される⁷¹⁾。一方、キノコ体の葉部でそれらを発現させた場合では中期記憶だけが特異

的に阻害される。すなわち NMDA 型受容体はキノコ体では中期記憶の形成に、楕円体では長期記憶の形成に重要な役割を果たしていることが示唆される。

6. キノコ体ニューロンにおける嗅覚学習・記憶の細胞分子モデル

ここまでショウジョウバエの嗅覚学習・記憶に関わる遺伝子とその突然変異体を例に挙げて様々な記憶関連分子を紹介してきた。それらの記憶関連分子がどのように関わって学習・記憶が形成されるのであろうか？ここでは、Davis らが提案したショウジョウバエのキノコ体ニューロンにおける嗅覚記憶形成の細胞分子モデル^{10, 45)} を改変したものの (図 3) を用いて、嗅覚学習・記憶の形成機構について述べる。

このモデルでは cAMP シグナル伝達系が主要な役割を果たしている。この cAMP シグナルには cAMP ホスホジエステラーゼ (遺伝子は *dnc*)、アデニル酸シクラーゼ (*rut*)、PKA 触媒サブユニット (*DCO*)、cAMP 応答配列結合タンパク質 CREB (*dCREB2*)、PKA のアンカータンパク質 AKAP (*yu*) と、本稿では紹介しなかった G タンパク質 サブユニット (*G_s*)⁸⁾、PKA 調節サブユニット (*Pka-R1*)²⁷⁾ などの記憶関連分子が関与している。これらのうち cAMP ホスホジエステラーゼ、アデニル酸シクラーゼ、PKA、G タンパク質は学習や短期記憶の形成に、CREB と AKAP は長期記憶の形成に関与するものと考えられている^{37, 45)}。

匂いと電気ショックの連合条件付けを行なった場合、嗅覚情報は 1 次嗅覚中枢である触角葉から投射ニューロンを介してキノコ体の傘部に伝わる。一方、電気ショック刺激情報はドーパミンニューロンを介してキノコ体の葉部に伝わる (報酬条件付けの場合、砂糖水情報がオクトパミンニューロンを介して伝わる)。嗅覚刺激由来の Ca^{2+} 流入に伴う $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ の発生 (図では示していない) と、NF1 タンパク質を介した電気ショック刺激由来の G タンパク質 (*G_s*) の活性化が起こる。これらの同時刺激によりアデニル酸シクラーゼ (*rut*) が活性化して cAMP が合成される。増加した cAMP はアンカータンパク質 AKAP (*yu*) により繋ぎとめられている PKA (*Pka-R1*) を活性化する。PKA の活性化により解離した PKA 触媒サブユニット (*DCO*) が様々なタンパク質をリン酸化し、その結果、学習・短期記憶が形成される。ただし PKA の活性化に必要な cAMP の量が過剰であると学習は成立しない。そのため、cAMP は適量となるように cAMP ホスホジエステラーゼ (*dnc*) により調節されている。この cAMP シグナル伝達系とは別に、細胞接着分子のインテグリン (*Vol*)²⁹⁾ やファスクリン 2 (*Fas2*)⁵⁾、図では示していないがシナプス小胞関連リントタンパク質であるシナプシン (*Syn*)²⁶⁾ などシナプスの構造や機能を調節することで学習と短期記憶の形成に関与している。また細胞質内に存在する 14-3-3 タンパク質 (*leo*) も学習の形成に関わっている⁵⁴⁾。

短期記憶から中期記憶への移行には DPM ニューロンによる神経ペプチド PACAP (*amn*) の放出が必要で、PACAP は G タンパク質共役型神経ペプチド受容体に結合してアデニル酸シクラーゼを活性化する。麻酔耐性記憶の形成には *radish* 遺伝子産物と非定型 PKC の触媒サブ

表1 ショウジョウバエの嗅覚学習・記憶に関わる遺伝子と記憶関連分子

表現型	遺伝子	記憶関連分子: 遺伝子産物(機能)	生化学経路	発現部位
learning	<i>linotte (lia)</i>	受容体チロシンキナーゼ	キノコ体の発達	キノコ体, 中心複合体
learning	<i>latheo (lat)</i>	複製開始点認識複合体のサブユニット	キノコ体の発達	キノコ体, 神経筋接合部
learning	<i>Synapsin (Syn)</i>	シナプシン	cAMP?	中枢神経系
learning	<i>pale (ple)</i>	チロシン水酸化酵素(ドーパミン合成)	cAMP?	中枢神経系
learning	<i>Tbh</i>	チラミン β 水酸化酵素(オクトパミン合成)	cAMP?	中枢神経系
learning	<i>Gα_s</i>	Gタンパク質 α サブユニット	cAMP	-
learning	<i>leonardo (leo)</i>	14-3-3タンパク質	MAPK?, PKC?	キノコ体
learning, STM	<i>dunce (dnc)</i>	cAMPホスホジエステラーゼ	cAMP	キノコ体
learning, STM	<i>rutabaga (rut)</i>	Ca/CaM依存アデニル酸シクラーゼ	cAMP	キノコ体
learning, STM	<i>DCO</i>	PKAの触媒サブユニット	cAMP	キノコ体
learning, STM	<i>Pka-R1</i>	PKAの調節サブユニット	cAMP	キノコ体
learning, STM	<i>Volado (Vol)</i>	細胞接着分子のインテグリン α 鎖	細胞接着	キノコ体
learning, STM	<i>Fasciclin 2 (Fas2)</i>	細胞接着分子のファシクリン2	細胞接着	キノコ体
learning, LTM	<i>Adf1</i>	Myb様転写因子	-	中枢神経系
learning, LTM	<i>nebula (nla)</i>	カルシプレッシン(カルシニューリン阻害)	cAMP	キノコ体
learning, LTM	<i>Nf1</i>	Ras GTPアーゼ活性化タンパク質	MAPK, cAMP	-
MTM	<i>amnesiac (amn)</i>	下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド	cAMP	DPMニューロン
MTM, LTM	<i>Nmdar1/Nmdar2</i>	NMDA型グルタミン酸受容体	-	中枢神経系
ARM	<i>aPKC</i>	非定型PKC	PKC	-
ARM	<i>radish (rsh)</i>	-	-	キノコ体, 中心複合体
LTM	<i>dCREB2</i>	cAMP応答配列結合タンパク質	cAMP	-
LTM	<i>yu</i>	PKAアンカータンパク質	cAMP	キノコ体
LTM	<i>staufer (stau)</i>	(リボ核タンパク質輸送)	mRNA輸送	キノコ体
LTM	<i>oskar (osk)</i>	(リボ核タンパク質輸送)	mRNA輸送	キノコ体
LTM	<i>eIF-5C</i>	翻訳開始因子	タンパク質合成	キノコ体
LTM	<i>pumilio (pum)</i>	(翻訳制御)	タンパク質合成	キノコ体
LTM	<i>Notch (N)</i>	Notchタンパク質	Notch	-
LTM	<i>neuritized (neur)</i>	E3ユビキチン転移酵素	Notch?	キノコ体
LTM	<i>crammer (cer)</i>	カテプシン阻害タンパク質	-	キノコ体, グリア細胞
LTM	<i>Tequila (Teq)</i>	セリンプロテアーゼ	-	-
LTM	<i>Ptp10D</i>	受容体チロシンホスファターゼ	-	キノコ体, 中心複合体

STM: 短期記憶, MTM: 中期記憶, ARM: 麻酔耐性記憶, LTM: 長期記憶

を与える可能性がある。ショウジョウバエでは報告がないが、一酸化窒素(nitric oxide: NO)が長期記憶の形成過程において重要な役割を担っていることが、Müllerによるミツバチの嗅覚学習の研究⁴⁷⁾と、筆者らのグループによるコオロギの嗅覚学習の研究⁴²⁾で明らかにされている。ミツバチとコオロギの実験系から、NOがその標的タンパク質である可溶性グアニル酸シクラーゼ(cGMP合成酵素)を活性化し、合成されたcGMPがcAMP/PKAに働きかけ、その結果タンパク質合成依存の長期記憶が形成されるという仮説が示唆された^{42, 47)}。さらに筆者らは長期記憶形成を誘導する薬物と阻害する薬物とをいろいろと組み合わせで投与し、長期記憶への影響を薬理行動学的に調べた。するとコオロギではNO/cGMP系がCNGチャネル(cyclic nucleotide-gated channel)とCa²⁺/CaMを介してcAMP/PKA系を活性化させることが長期記憶の形成において重要であるということが判明した⁴²⁾。これは記憶関連分子同士の相互関係を示唆した良い例である。ショウジョウバエの実験系でもこれまでにダブルミュータントの行動解析や突然変異体での行動薬理なども行われていたが、それはほんの数例しかない^{13, 25, 67)}。記憶を誘導する遺伝子と阻害する遺伝子とを同時に発現させた個体で学習・記憶の表現型を調べることにより、記憶形成機構における記憶関連分子同士の相互関係が理解できるかもしれない。

8. おわりに

本稿ではショウジョウバエの嗅覚連合条件付けにおける学習・記憶の遺伝子を例に挙げながら様々な記憶関連分子について紹介した。紙面の都合上、嗅覚連合条件付けによるものだけを取り上げたが、別の学習訓練方法で同定された記憶関連分子もいくつか存在する。代表的なものとして、Ca²⁺/CaM依存プロテインキナーゼ(*CaMKII*)が求愛条件付けによる学習に関与していることが報告されている^{28, 34)}。また、リボソームS6キナーゼII(*S6kII*)がヒートボックスを使ったオペラント条件付けによる学習に関与していると示唆されている⁵⁶⁾。ただし、同じ生体分子でも学習訓練方法が異なると記憶関連分子として機能しない、または異なる学習・記憶の相で機能するという可能性がある。そのため、異なる学習訓練方法で同定されたこれらの学習・記憶の変異体が嗅覚連合条件付けにおいてどのような表現型を示すのかを調べる必要がある。

ショウジョウバエ、ミツバチ、コオロギなどの昆虫でこれまでに同定されている記憶関連分子は数十種類あると思われる。その多くについて、ホモログがマウスやラットの学習、記憶、もしくはその基盤となるシナプス可塑性に関与していることが示唆されている^{44, 45)}。よってショウジョウバエや他の昆虫で同定された新規の記憶関連分子は高等動物の学習記憶においても機能している可能性があり、昆虫の学習や記憶形成の分子機構の解明は高等動物の学習・記憶の制御機構の理解に示唆を与える可能性は高いと考えられている。

文 献

- 1) Boynton, S., & Tully, T.: *Genetics*, 131, 655-672 (1992)
- 2) Callahan, C., Muralidhar, M., Lundgren S., Scully, A., & Thomas, J.: *Nature*, 376, 171-174 (1995)
- 3) Chang, K.T., Shi, Y.J., Min, & K.T.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 100, 15794-15799 (2003)
- 4) Chen, C.N., Denome, S., Davis, R.L.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 83, 9313-9317 (1986)
- 5) Cheng, Y., Endo, K., Wu, K., Rodan, A.R., Heberlein, U., & Davis, R.L.: *Cell*, 105, 757-768 (2001)
- 6) Chiang, A.S., Blum, A., Barditch, J., Chen, Y.H., Chiu, S.L., Reglusk, M., Armstrong, J.D., Tully, T., & Dubnau, J.: *Curr. Biol.*, 14, 263-272 (2004)
- 7) Comas, D., Petit, F., & Preat, T.: *Nature*, 430, 460-463 (2004)
- 8) Connolly, J.B., Roberts, I.J., Armstrong, J.D., Kaiser, K., Forte, M., Tully, T., & O'Kane, C.J.: *Science*, 274, 2104-2107 (1996)
- 9) Dauwalder, B., & Davis, R.L.: *J. Neurosci.*, 15, 3490-3499 (1995)
- 10) Davis, R.L.: *Neuron*, 44, 31-48 (2004)
- 11) DeZazzo, J., Sandstrom, D., de Belle, S., Velinzon, K., Smith, P., Grady, L., Del Vecchio, M., Ramaswami, M., & Tully, T.: *Neuron*, 27, 145-158 (2000)
- 12) Didelot, G., Molinari, F., Tchenio, P., Comas, D., Milhiet, E., Munnich, A., Colleaux, L., & Preat, T.: *Science*, 313, 851-853 (2006)
- 13) Drier, E.A., Tello, M.K., Cowan, M., Wu, P., Blace, N., Sacktor, T.C., & Yin, J.C.: *Nat. Neurosci.*, 5, 319-324 (2002)
- 14) Dubnau, J., Chiang, A.S., & Tully, T.: *J. Neurobiol.*, 54, 238-253 (2003)
- 15) Dubnau, J., Chiang, A.S., Grady, L., Barditch, J., Gossweiler, S., McNeil, J., Smith, P., Bludoc, F., Scott, R., Certa, U., Broger, C., & Tully, T.: *Curr. Biol.*, 13, 286-296 (2003)
- 16) Dubnau, J., & Tully, T.: *Annu. Rev. Neurosci.*, 21, 407-444 (1998)
- 17) Dudai, Y., Jan, Y.N., Byers, D., Quinn, W.G., & Benzer, S.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 73, 1684-1688 (1976)
- 18) Dudai, Y., Corfas, G., & Hazvi, S.: *J. Comp. Physiol. [A]*, 161, 101-109 (1988)
- 19) Dura, J.M., Preat, T., & Tully, T.: *J. Neurogenet.*, 9, 1-14 (1993)
- 20) Erber, J.: *J. Comp. Physiol.*, 99, 243-255 (1975)
- 21) Feany, M.B., & Quinn, W.G.: *Science*, 268, 869-873 (1995)
- 22) Ferreira, A., & Rapoport, M.: *Cell. Mol. Life Sci.*, 59, 589-595 (2002)
- 23) Folkers, E., Drain, P., & Quinn, W.G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 90, 8123-8127 (1993)
- 24) Folkers, E., Waddell, S., & Quinn, W.G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 103, 17496-17500 (2006)
- 25) Ge, X., Hannan, F., Xie, Z., Feng, C., Tully, T., Zhou, H., Xie, Z., & Zhong, Y.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 101, 10172-10176 (2004)
- 26) Godenschwege, T.A., Reisch, D., Diegelmann, S., Eberle, K., Funk, N., Heisenberg, M., Hoppe, V., Hoppe, J., Klagges, B.R., Martin, J.R., Nikitina, E.A., Putz, G., Reifegerste, R., Reisch, N., Rister, J., Schaupp, M., Scholz, H., Schwarzel, M., Werner, U., Zars, T.D., Buchner, S., & Buchner, E.: *Eur. J. Neurosci.*, 20, 611-622 (2004)
- 27) Goodwin, S.F., Del Vecchio, M., Velinzon, K., Hogel, C., Russell, S.R.H., Tully, T., & Kaiser, K.: *J. Neurosci.*, 17, 8817-8827 (1997)
- 28) Griffith, L.C., Verselis, L.M., Aitken, K.M., Kyriacou, C.P., & Greenspan, R.J.: *Neuron*, 10, 501-509 (1993)
- 29) Grotewiel, M.S., Beck, C.D.O., Wu, K.-H., Zhu, X.-R., & Davis, R.L.: *Nature*, 391, 455-460 (1998)
- 30) Guo, H.F., The, I., Hannan, F., Bernards, A., & Zhong, Y.: *Science*, 276, 795-798 (1997)
- 31) Guo, H.F., Tong, J., Hannan, F., Luo, L., & Zhong, Y.: *Nature*, 403, 895-898 (2000)
- 32) Han, P.-L., Levin, L.R., Reed, R.R., & Davis, R.L.: *Neuron*, 9, 619-627 (1992)
- 33) Ho, I.S., Hannan, F., Guo, H.F., Hakker, I., & Zhong, Y.: *J. Neurosci.*, 27, 6852-6857 (2007)
- 34) Joiner, M.A., & Griffith, L.C.: *J. Neurosci.*, 17, 9384-9391 (1997)
- 35) Kitamoto, T.: *J. Neurobiol.*, 47, 81-92 (2001)
- 36) Levin, L.R., Han, P.-L., Hwang, P.M., Feinstein, P.G., & Davis, R.L.: *Cell*, 37, 205-215 (1992)
- 37) Lu, Y., Lu, Y.S., Shuai, Y., Feng, C., Tully, T., Xie, Z., Zhong, Y., & Zhong, H.M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 104, 13792-13797 (2007)
- 38) Mansuy, I.M.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 311, 1195-1208 (2003)
- 39) Margulies, C., Tully, T., & Dubnau, J.: *Curr. Biol.*, 15, R700-R713 (2005)
- 40) Martin, K.C., & Kandel, E.R.: *Neuron*, 17, 567-570 (1996)
- 41) Martin, K.C., Casadio, A., Zhu, H., Yaping, E., Rose, J.C., Chen, M., Bailey, C.H., & Kandel, E.R.: *Cell*, 91, 927-938 (1997)
- 42) Matsumoto, Y., Unoki, S., Aonuma, H., & Mizunami, M.: *Learn Mem.*, 13, 35-44 (2006)
- 43) 松本幸久：比較生理生化学, 25, 11-20 (2008)
- 44) Mayford, M., & Kandel E.R.: *Trends Genet.*, 15, 463-470 (1999)
- 45) McGuire, S.E., Dedhazer, M., & Davis, R.L.: *Prog. Neurobiol.*, 76, 328-347 (2005)
- 46) Moreau-Fauvarque, C., Taillebourg, E., Boissoneau, E., Mesnard, J., & Dura, J.M.: *Mech. Dev.*, 78, 47-61 (1998)

- 47) Müller, U.: *Neuron*, 27, 159-168 (2000)
- 48) Nighorn, A., Healy, M., Davis, R.L.: *Neuron*, 6, 455-467 (1991)
- 49) O'Kane, C.J., & Gehring, W.J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 84, 9123-9127 (1987)
- 50) Pavlopoulos, E., Anezaki, M., & Skoulakis, E.M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 105, 14674-14679 (2008)
- 51) Perazzona, B., Izabel, G., Preat, T., & Davis, R.L.: *J. Neurosci.*, 24, 8823-8828 (2004)
- 52) Philip, N., Acevedo, S.F., & Skoulakis, E.M.: *J. Neurosci.*, 21, 8417-8425 (2001)
- 53) Pinto, S., Quintana, D.G., Smith, P., Mihalek, R.M., Hou, Z.H., Boynton, S., Jones, C.J., Hendricks, M., Velinzon, K., Wohlschlegel, J.A., Austin, R.J., Lane, W.S., Tully, T., & Dutta, A.: *Neuron*, 23, 45-54 (1999)
- 54) Platenik, J., Kuramoto, N., & Yoneda Y.: *Life Sciences*, 67, 335-364 (2000)
- 55) Presente, A., Boyles, R.S., Serway, C.N., de Belle, J.S., & Andres, A.J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 101, 1764-1768 (2004)
- 56) Putz, G., Bertolucci, F., Raabe, T., Zars, T., & Heisenberg, M.: *J. Neurosci.*, 24, 9745-9751 (2004)
- 57) Qian, M., Pan, G., Sun L., Feng, C., Xie, Z., Tully, T., & Zhong, Y.: *J. Neurosci.*, 27, 4396-4402 (2007)
- 58) Quinn, W.G., & Dudai, Y.: *Nature*, 262, 576-577 (1976)
- 59) Quinn, W.G., Sziber, P.P., & Booker, R.: *Nature*, 277, 212-214 (1979)
- 60) Rohrbough, J., Grotewiel, M.S., Davis, R.L., & Broadie, K.: *J. Neurosci.*, 20, 6868-6878 (2000)
- 61) Schwaerzel, M., Monastirioti, M., Scholz, H., Friggi-Grelin, F., Birman, S., & Heisenberg, M.: *J. Neurosci.*, 23, 10495-10502 (2004)
- 62) Simon, A.F., Boquet, I., Synguelakis, M., & Preat, T.: *Mech. Dev.*, 76, 45-55 (1998)
- 63) Skoulakis, E.M.C., Kalderon, D., & Davis, R.L.: *Neuron*, 11, 197-208 (1993)
- 64) Skoulakis, E.M.C., & Davis, R.L.: *Neuron*, 17, 931-944 (1996)
- 65) Skoulakis, E.M., & Davis, R.L.: *Mol. Neurobiol.*, 16, 269-284 (1998)
- 66) Skoulakis, E.M.C., & Grammenoudi, S.: *Cell. Mol. Life Sci.*, 63, 975-988 (2006)
- 67) Tully, T., Preat, T., Boynton, S.C., & Del Vecchio, M.: *Cell*, 79, 35-47 (1994)
- 68) Tully, T., & Quinn, W.G.: *J. Comp. Physiol.*, 157, 263-277 (1985)
- 69) Waddell, S., Armstrong, J.D., Kitamoto, T., Kaiser, K., & Quinn, W.G.: *Cell*, 103, 805-813 (2000)
- 70) Wilson et al., Pearson, R.K., Bellen, H.J., O'Kane, C.J., Grossniklaus, U., & Gehring, W.J.: *Genes. Dev.*, 3, 1301-1313 (1989)
- 71) Wu, C.L., Xia, S., Fu, T.F., Wang, H., Chen,

- Y.H., Leong, D., Chiang, A.S., & Tully, T.: *Nat. Neurosci.*, 10, 1578-1586 (2007)
- 72) Xia, S., Miyashita, T., Fu, T.F., Lin, W.Y., Wu, C.L., Pyzocha, L., Lin, I.R., Saitoe, M., Tully, T., & Chiang, A.S.: *Curr. Biol.*, 15, 603-615 (2005)
- 73) Xu, G.F., Lin, B., Tanaka, K., Dunn, D., Wood, D., Gesteland, R., White, R., Weiss, R., & Tamanoi, F.: *Cell*, 63, 835-841 (1990)
- 74) Yin, J.C., Wallach, J.S., Del Vecchio, M., Wilder, E.L., Zhou, H., Quinn, W.G., & Tully, T.: *Cell*, 79, 49-58 (1994)
- 75) Yin, J.C., Del Vecchio, M., Zhou, H., & Tully, T.: *Cell*, 81, 107-115 (1995)
- 76) Yin, J.C., Wallach, J.S., Wilder, E.L., Klingensmith, J., Dang, D., Perrimon, N., Zhou, H., Tully, T., & Quinn, W.G.: *Mol. Cell Biol.*, 15, 5123-5130 (1995)
- 77) Zars, T., Fischer, M., Schulz, R., & Heisenberg, M.: *Science*, 288, 672-675 (2000)

Abstract

Memory molecules in insects: from studies of memory mutants in the fruit fly *Drosophila melanogaster*

Yukihisa Matsumoto and Chihiro Sato

Grad. Sch. Life Sci., Tohoku Univ., Sendai 980-8577, Japan

Learning and memory are fundamental higher brain functions that allow an animal to adapt to the environment. Studies in a variety of animals such as mollusks, insects and mammals have shown that memories contain various phases from short-term memories in the range of minutes to long-term memories lasting a lifetime. Different intercellular molecules have been implicated in distinct aspects of learning and memory formation. For convenience, these molecules are sometimes termed 'memory molecules'. Insects have high learning ability despite their simple nervous systems with relatively small number of neurons, and thus are suitable for studying learning and memory. Specifically, fruit fly *Drosophila melanogaster* is one of the well-studied animals in the field of memory molecules. The application of the mutagenic approach to the study of olfactory learning and memory in *Drosophila* has yielded insights into the participation of numerous memory molecules. In this review, we briefly describe memory mutants in *Drosophila* and the molecular mechanisms that contribute to the various forms of memory.

Keywords: memory molecule, olfactory learning, short-term memory, middle-term memory, anesthesia resistant memory, long-term memory, *Drosophila melanogaster*