

A-10

ヨーロッパモノアラガイの低カルシウム下での味覚嫌悪条件学習

The effect of low calcium environment on taste aversion learning in pond snail, *Lymnaea stagnalis*○岩堀哲也¹, 加藤功弥¹, 仲田正吾², 齊藤渉², 斎藤稔³, 小松崎良将⁴Tetuya Iwahori¹, Kouya Kato¹, Syogo Nakata², Wataru Saito², Minoru Saito³, Yoshimasa Komatsuzaki⁴

Abstract: A pond snail, *Lymnaea stagnalis*, is a calciphile, and alters respiratory and locomotor activity in response to acute exposure to low calcium (20 mg/l) environment. However, little is known about how low calcium environment affects the memory formation in pond snails. Here, we examined the effect of acute exposure to ultrapure water (low calcium) environment on taste aversion learning in *L. stagnalis*. In this work, we performed electrophysiological recordings of cerebral ganglion cell, which is center for feeding system, to investigate the effect of membrane depolarization evoked by current injection.

1. はじめに

ヨーロッパモノアラガイは高カルシウム環境を好む動物であり、低カルシウム環境におかれると呼吸行動や活動量の低下が見られる。例えば低カルシウム濃度の人工飼育水 (20 mg/L Ca²⁺) 下でヨーロッパモノアラガイに呼吸行動に関するオペラント学習を行うとその記憶形成が阻害されることが報告されている[1]。またこのような低カルシウム環境下においても緑茶などに含まれる植物由来のエピカテキンをトレーニング時に与えるとその阻害作用が打ち消されて、長期記憶の形成が可能になる[2]。しかしながらこのような低カルシウム環境が与える記憶抑制作用やエピカテキンにおける記憶形成に対する増強作用のメカニズムは未だに解明されていない。本研究では、この低カルシウム環境が与える記憶形成阻害作用のメカニズムを調べるために、低カルシウム環境下での味覚嫌悪条件トレーニングを行った。味覚嫌悪条件付け学習は、摂食行動における古典的条件付け学習であり、モノアラガイはこのトレーニングを行うと摂食行動の変化が数日間持続することが知られている。条件付刺激であるショ糖 (Sucrose) に対しては摂食行動が誘発され咀嚼運動が活発になり、無条件刺激である KCl 溶液に対しては摂食行動が抑制され咀嚼回数が減少し、殻に引込む反応を示す[3]。本研究ではこの条件刺激と無条件刺激を組み合わせたトレーニングを行うことで、低カルシウム環境下におけるエピカテキンの記憶形成に対する作用を検証した。

2. 実験方法

本研究では、オランダ原産で殻長が 2.0-2.5cm のヨーロッパモノアラガイ (*Lymnaea stagnalis*) を用いた。

▼Pre-test

実験に用いたモノアラガイは、実験の 24 時間前に絶食を行った。咀嚼行動を観察するために、実験台の上にシャーレを置き、1 匹ずつ入れた。モノアラガイを 30 分間新しい環境に慣れさせたあと、条件刺激 (ショ糖溶液) を 15 秒与え、超純水にかえたあと 5 分間咀嚼回数を測定した。

▼Training

シャーレ内の溶液を抜き取り、ショ糖溶液を 15 秒、KCl 溶液を 15 秒与えた後、9 分 30 秒間超純水またはエピカテキン+超純水のなかで静置した。上記の操作を 5 回ずつ繰り返し行った。

▼Post-test

プレテストと同様にショ糖溶液 15 秒与え、超純水にか

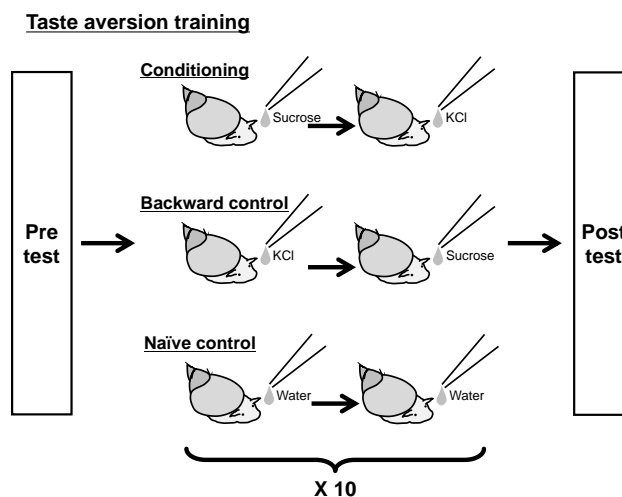


Figure 1. In pre-test and post-test sessions, we observed the number of biting movements (feeding responses) for 5 minutes in distilled water following a 15 s application of 10 mM sucrose (as a conditioned stimulus (CS)). 10 mM KCl was used as the unconditioned stimulus (US).

えた後 5 分間の咀嚼回数を測定した。この測定を、24 時間、48 時間、72 時間、で行った。

3. 結果・考察

Figure2 のように超純水による無カルシウム環境下 (Ca^{2+} -free) においても 48 時間までの長期記憶が形成されていることが分かった。これは呼吸行動に関するオペラント学習とは異なり, 本研究で行った古典的条件付けにおいてはある程度低カルシウム環境下においても長期記憶の形成が可能であることが分かった。また, この環境下においてのエピカテキンを与えると (Ca^{2+} -free+EC) さらに長期記憶の増強がみられることから、この作用は前述のオペラント学習の結果と一致することが分かった。

今後は電気生理を用いてさらに理解を深めたいと考えている。

4. 参考文献

- [1] S. Dalesman et al., “Low environmental calcium blocks long-term memory formation in a freshwater pulmonate snail.”, *Neurobiol Learn Mem.*, Vol.95, pp393-403, 2011.
- [2] B. Knezevic et al., “A flavanoid component of chocolate quickly reverses an imposed memory deficit.”, *J Exp Biol.*, Vol.219, pp816-23, 2016.
- [3] H. Sunada et al., “Electrophysiological characteristics of feeding-related neurons after taste avoidance Pavlovian conditioning in *Lymnaea stagnalis*.”, *Biophysics*, Vol.10, pp121-33, 2014

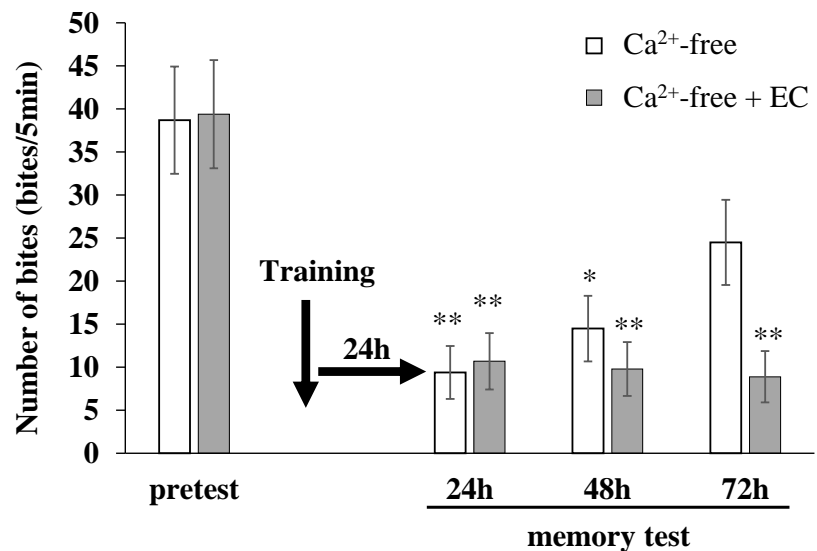


Figure 2. Effects of epicatechin on taste aversion learning under Ca^{2+} -free environment. The y-axis shows the numbers of bites per 5 minutes elicited by the CS (sucrose) in the pretest session and the memory tests.