

コオロギにおける睡眠判定手法開発の試み

○白井 弘晃^{A)}、川原 茂敬^{B)}
富山大学理工系総務課^{A)}、富山大学工学部^{B)}

1. はじめに

睡眠は学習や記憶の安定化に重要な役割を果たしている。単純な神経システムを持つ昆虫も睡眠をとることから、睡眠中の脳波解析や学習・記憶において果たす役割の解明が望まれる。しかしながら、ほ乳類で知られるような脳波や筋肉の状態などによる、睡眠の明確な定義はなく、実験ごとの基準により、睡眠様態と表現されることが多い。昆虫における睡眠研究の多くは、ショウジョウバエを用いたもので、同じく有用な実験動物の一つであるコオロギを用いた睡眠研究は少ない。そこで、今回は、コオロギにおける睡眠判定手法開発の試みとして、昆虫における中枢部位である Mushroom Body (MB) の局所場電位 (LFP) と行動を長期的に測定することで、ほ乳類の睡眠時に見られるような低周波数 (4-7 Hz 付近) の検出と行動状態による昆虫における睡眠の判定を目指した。

2. 実験方法

実験動物：実験にはフタホシコオロギ (*Gryllus bimaculatus*, メス, 若齢) を用い、飼育、実験ともに 12 h / 12 h の明暗サイクル、室温 $27 \pm 1^\circ\text{C}$ で実施した。

測定準備：コオロギは測定直前に冷却麻酔し、頭部の露出と拘束のためのピンの刺入を行った。この際、昆虫の胸部外殻をウレタンチューブで縛り、チューブ、ピン、頭部をデンタルセメントで固定した。

実験装置：コオロギはピンで繋ぎ、直径約 5 cm の発泡スチロール製ホイールに乗せた (図 1)。ホイールには 1 cm 幅の白黒の滑り止めが交互に貼り付けてあり、近赤外線センサーにより動きを検出し、

LFP データとともに PC へと取りこんだ。

測定条件：LFP の測定は以下の条件で実施

電極：ガラス電極

内部電極：銀-塩化銀電極

内部液：コオロギ用生理食塩水

sampling rate: 1 kHz

band-pass filter: 1.5 – 30 Hz

Gain: $\times 10,000$

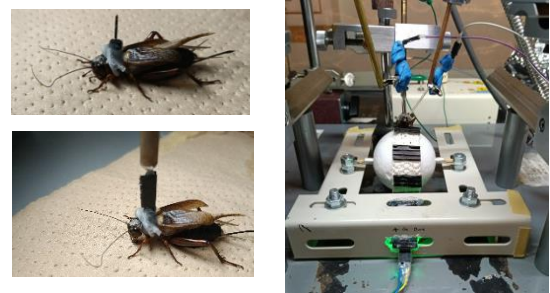


図 1 コオロギ術後及び測定装置

3. 結果

例として 12 時間の測定データと 10 分以上静止していたデータを提示する (図 2)。

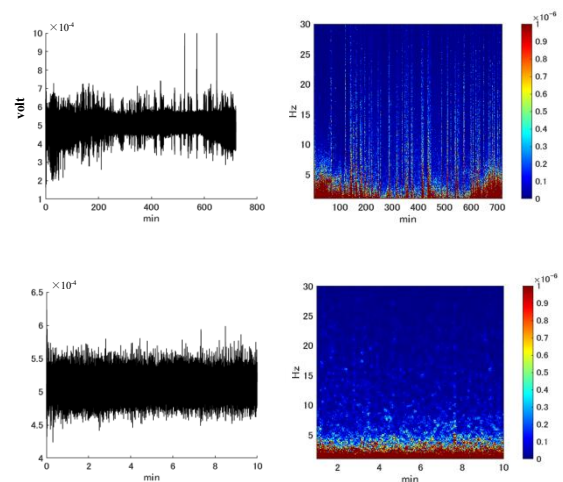


図 2 上 12 時間 LFP データと Spectrogram
下 静止時間帯データと Spectrogram

この 12 時間の測定の中で、静止時間帯は約 20 回存在していた。これらのデータの周波数解析を行ったところ、幾つかのデータで目的とした 4-7 Hz を含む低周波数帯に小さなピークが確認できた。

4. まとめ

今回、睡眠判定手法の開発を目的として、拘束下で MB からの LFP の測定を行い、静止状態の神経活動を測定することが出来た。今後は、この静止状態から睡眠状態を区別するために、神経活動の解析を進めるとともに、触覚や後ろ脚などの画像解析を加えることで、昆虫における睡眠判定の確立を目指す。