

(P-16)

集団型全自動行動・記憶学習測定システム 「インテリケージ」のリモート運用と問題の改善

稲橋 宏樹¹、高橋 伸明¹、山中 緑¹、神谷 絵美¹、窪田 美津子¹、廣江 猛¹、西島 和俊^{2,3}
(¹生理学研究所 技術課
自然科学研究機構 ²動物資源共同利用研究センター、³生理学研究所)

INAHASHI Hiroki¹, TAKAHASHI Nobuaki¹, YAMANAKA Midori¹, KAMIYA Emi¹, KUBOTA Mitsuko¹,
HIROE Takeshi¹, NISHIJIMA Kazutoshi^{2,3}:

Remote operation and problem remediation of “IntelliCage”, a group-based, fully automated behavioral memory learning measurement system.

In 2024, the IntelliCage, a group-based, fully automated behavior and memory learning measurement system, was installed in the SPF breeding room at the NIPS animal center (Meidaiji and Yamate areas). With this system, we are now able to perform high-throughput, long-term, fully-automated behavioral monitoring and behavioral measurement in a group mouse rearing environment. By using a dedicated program, we expect to be able to conduct behavior monitoring in remote environments and to analyze and evaluate memory learning behaviors. Prior to the formal joint use, we conducted a behavioral experiment in the Yamate area to test the operation of the system and obtained various findings.

1. 概要と目的

インテリケージとは、通常飼育環境下に近い状態で個体識別用の RFID タグを埋め込んだ最大 16 匹のマウスの行動、記憶学習行動、空間認知などを全自動測定、解析する事ができるシステムである (Fig. 1)。ケージの四隅には成体のマウス 1 匹が入れる広さの小部屋 (コーナー) があり、コーナー入口のアンテナでマウスに埋め込んだ RFID タグを読み取って個体識別をする。各コーナーの中には 2 箇所 of ドアがあり、Nosepoke (マウスがドアに鼻を近づける行為) をセンサーが読み取り、学習プログラムに応じて個体ごとにドアの開閉を制御する。ドアの奥には給水口があり、マウスはドアが開いている間に飲水できる。また、ドアの上には赤・青・緑の点灯が可能な LED とエアパフがあり、LED を用いた視覚刺激や、報酬=給水、嫌悪刺激=エアパフを用いた行動測定、記憶学習、弁別学習、空間認知、条件回避などのタスクが可能となる。研究所では 2025 年度より機器の正式な共同利用を開始する予定で、山手地区にて動作テストを兼ねて、てんかんに関わる遺伝子に欠損を持ったマウス系統 (ADAM22-ΔC5-KI)、野生型系統 (C57BL/6) の間での記憶学習や空間認知の差の評価、生じた問題への対応を行ったので報告する。

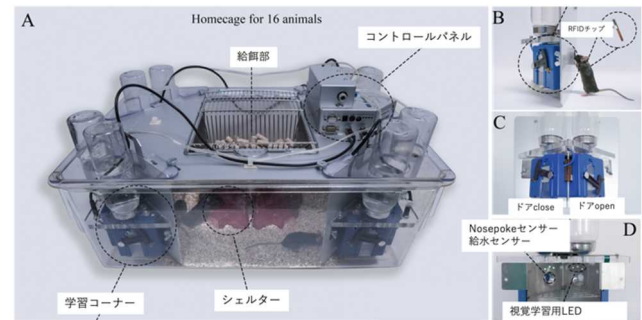


Fig.1 インテリケージの構造 (Kiryk et al. Behav Brain Res. 2020)

2. 方法

(1) RFID タグの挿入 (7 days)

個体識別用の RFID タグを皮下に挿入する。吸入麻酔 (イソフルラン) 下で皮下に RFID タグを埋め込む。

(2) 集団飼育 (7 days)

最大 16 匹のマウスを集団飼育に順化させる。シェルター設置により喧嘩による怪我を防ぐことが可能。

(3-1) Exploratory behavior (24 hr)

全てのドアが開放され自由に飲水できる。ケージへの導入後 24 時間のマウスの探索行動の傾向を確認する。マウスはこの期間に給水口の位置を学習する。

(3-2) Habituation (7 days)

任意のコーナーでの Nosepoke によって 2 秒間ドアが開き飲水できる。この期間に行動実験での基本的な飲水方法を学習する。

(4) Basal activity (11 days)

Habituation 期間に学習した飲水方法での一般的なマウスの行動パターンを記録する。

(5-1) 行動実験① SPFLEX-CS (8-10 days)

①対角線上の2つのコーナーで交互に飲水することを学習する。②一定の成功基準に達すると給水可能なコーナーが完全に入れ替わる(CS:Comp-lete Shift)。一定回数入れ替わると実験終了。

(5-2) 行動実験② SPFLEX-CSPS (8-10 days)

SPFLEX-CS の派生型。①2コーナーとも変化(CS)と②1コーナーのみ変化(PS: Partial Shift)を交互に繰り返し、一定回数切り替わると実験が終了。SPFLEX-CS よりも学習難易度が高く、一般的に(CS)は(PS)と比べて順応に時間を擁する傾向にある。

3. 結果と考察

(1) インテリケージの異常動作への対応

実験中に突然 LED が点灯し全てのドアが勝手に閉じる不具合が生じた。実験中止後、プログラムを停止しても勝手に動作するため装置本体の故障を疑った。装置の電源には遠隔で機器を再起動するための、「SwitchBot プラグミニ」という製品を接続していたが、これを取り外したところ異常動作は無くなり、現在まで正常に動作している。後日、SwitchBot 社からプラグの故障で電源の ON・OFF を繰り返す不具合が報告され、これが本トラブルの原因と推察された。

(2) 山手地区での複数台の同時運用の必要性

実験を行っていた山手地区では、(1)の機器トラブルの都合で大幅な実験の遅延が生じた。追加実験用のマウスの日齢を揃える必要もあり、明大寺地区のインテリケージを山手地区に移送し、2台を並設して実験をおこなった。それぞれのケージ側面を WEB カメラ2台、餌と給水瓶の様子を広角カメラ1台で監視した。

(3) プログラムの不備の修正

作製したプログラムには2つの問題点があった。

- ①コーナー内の左右のドアを2秒以内に往復するとマウスが外に出るまで最初のドアが開いたままになる。→正解の Nosepoke 後にもう一つのドアを強制的に閉める記述を追加して無効化した。
- ②ドアが開いてから2秒以内に同じ場所で Nosepoke をすると更に2秒間飲水できる。→信号のタイミングを変更し、ドアが閉じた後ではなく、Nosepoke によりドアが開いた直後に強制的に次のコーナーに正解を割り当てる事で無効化した。

(4) RFID タグの位置ズレの修正

首元に放出した RFID タグが、一部の個体では腹部付近まで押し戻されて定着していた。Nosepoke 時にタグが読み取られないと正常な学習行動ができないため、タグの挿入方法の改善を試みた。従来法では左後肢の付け根付近から針を挿入し左首元にタグを残置するのに対し、新手法では首より少し後肢側の背中正中から挿入して首元にタグを残置することにより、頭部付近にタグが残りコーナーでの認識精度も改善した。

(5) その他のトラブル対応(代表例を記載)

- ・マウスのイヤリングがコーナー内の床の金属格子部分に引っかかってしまい動けなくなる。
→実験を中断して装置を解体し救出、イヤリングを切除した。
- ・死亡マウスがシェルター内に埋まり、マウスがシェルター外で生活する。喧嘩が増え、一部の個体がタスクを継続できず実験を中止する。
→各行動のログとカメラで監視し、実験への干渉を考慮しつつ死亡個体を取り除くことにした。

(6) 系統間の表現系の評価

実験では Basal activity と SPFLEX-CS で有意な系統差が見られた。(論文投稿中につき詳細データは非公開)

(7) 今後の運用について

半年間の運用では様々なトラブルが生じたが多くの問題点を改善することができた。これから機器の正式な共同利用が開始されるため、これまでの運用結果を踏まえた利用ルールの策定と利用希望者への適切な教育を行う必要がある。現在、多階層生理機能解析室の知見聡美助教、山肩葉子先生とともに、明大寺地区での試験的な行動実験を行っている。所外の研究者がマウスを持ち込んで実験を行うための飼育スペースや消耗品、飼育費用の執行方法についても検討中である。

謝辞

本実験の実施にあたり東京大学医学系研究科 平野瑤子様、名古屋大学医学系研究科神経情報薬理学講座の皆様、個体創生研究部門の皆様、多階層生理機能解析室の皆様にこの場をお借りして感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Kiryk A, et al. Behav Brain Res.(2020) Jun 18:388: 112620.
- 2) Balan S, et al. Mol Psychiatry (2021). 26:7550–7559
- 3) Miyazaki Y, et al. Cell Rep 43:113634 (2024)
- 4) 日本実験動物協会 情報誌-LABIO21 No.85