

氏 名 アクボル マルフ モハマド
AKBOR MARUF MOHAMMAD

学位の種類 博士(工学)

学位記番号 富生命博甲第60号

学位授与年月日 平成26年3月21日

専攻名 生体情報システム科学専攻

学位授与の要件 富山大学学位規則第3条第3項該当

学位論文題目 IDENTIFICATION OF CANDIDATE GENES RESPONSIBLE
FOR LEARNING AND MEMORY DYSFUNCTION BY
QTL ANALYSIS OF SAMP8 MICE.

(SAMP8 マウスの連鎖解析による記憶学習障害候補責任遺伝子の同定)

論文審査委員

(主査) 教授 磯部 正治
教授 黒澤 信幸
准教授 池田 真行

Abstract

The exact cause of age-related dementia is still unknown due to involvement of multifactorial genes. Linkage analysis is most pragmatic way to clarify the cause of disease in recent days. Senescence accelerated mouse prone 8 (SAMP8) strain exhibits age-related learning and memory deficits (LMD) at 2 months of age well before the median age of survival (17.2 months), which further aggravates with advancing age without displaying other signs of premature aging. Japanese fancy mouse (JF1) strain derived from Japanese wild mouse (*Mus musculus molossinus*) showing normal learning and memory function. In step-through passive avoidance response with 264 F2 intercross SAMP8 x JF1 mice, SAMP8 exhibiting short retention time while JF1 exhibiting normal long retention time. From genetic analysis of SAMP8 mouse using the whole genome scan for quantitative trait loci (QTL) to specify the impairment in step-through passive avoidance test, five loci have been identified with significant linkage to chromosomes 1, 12, 13 and 15 related to manifestations of LMD. Three of them on chromosomes 1, 12, and 13 are due to SAMP8 background, while two of them on chromosome 15 are derived from JF1 background despite parental JF1 strain shows normal phenotype. The aim of this work is to search for the candidate genes related with learning and memory dysfunction in SAMP8 mice. RNA-seq and micro array analysis of LMD locus on Chromosome 13 identified *Hcn1* gene out of 29 genes. *Hcn1* in SAMP8 strain showed 15 times less polyglutamine repetition compared to JF1. Whole cell patch clamp analysis showed that *Hcn1* ion conductivity was significantly lower in SAMP8 compared to that of JF1, which may be associated with learning and memory deficiency. Although Senescence-resistant strain 1 (SAMR1) did not show any severe learning and memory dysfunction, SAMR1 has the same length of CAG repetition like SAMP8 mice. Considering SAMP8 has other LMD loci, *Hcn1* is not enough to cause learning and memory dysfunction alone thoroughly in SAMR1 strain. Combination with genes from other loci may affect learning and memory deficiency in SAMP8 mice. Therefore, I have searched for the genes possessing differences between SAMP8 and SAMR1 strains in other loci from SAMP8 background. In this purpose, transcriptome analysis of LMD region containing 218 genes on Chromosome 12 was performed. Micro array analysis of these genes showed no significant differences in the level of gene expression between SAMP8, SAMR1 and JF1 strains. However, RNA-seq

analysis showed that 3 genes possess SAMP8 specific SNPs. Finally, 3 genes were sorted out to be possible candidate gene in relation with learning and memory dysfunction which requires more studies in details to narrow down the most reliable candidate gene.

博士学位論文審査結果の要旨

平成 26 年 2 月 18 日に公聴会を開催し、本学位論文の審査を行った。本申請者は、加齢に伴う早期記憶学習障害を遺伝的に発症する SAMP8 マウス系統における記憶学習障害責任遺伝子の同定を目的に研究を行った。受動的回避反応法を指標に正常対照マウスとして JF1 系統を使用し、SAMP8 系統と JF1 系統の第二世代雑種を用いた QTL 連鎖解析法によって、SAMP8 系統由来の 13 番染色体上に同定された責任領域から責任遺伝子を探索した。海馬由来の mRNA を用いて DNA マイクロアレイ法ならびに転写産物の大規模塩基配列(RNAseq)解析を行った。その結果マウス 13 番染色体上で QTL 連鎖解析による最も高いロッドスコアを示した D13Mit133 遺伝子座の近傍に存在する、HCN1 陽イオンチャンネルの C 末側に含まれるポリグルタミン反復配列の長さが SAMP8 マウス系統では 22 個で、対照正常マウスとして用いた JF1 系統 (37 個) をはじめとする他の系統のマウス (38 個) よりも短縮していることを明らかにした。ポリグルタミン反復配列の長さの違いが JF1 系統と SAMP8 系統に由来する HCN1 イオンチャンネルにおけるイオン透過性に影響を与えるかどうかについてホールセルパッチクランプ法を用いた解析を行った。その結果、短いポリグルタミン反復配列を持つ SAMP8 系統由来の HCN1 チャンネルは正常な長さのポリグルタミン反復配列を持つ JF1 系統よりチャンネルを透過する電流値が低いことが明らかとなり、HCN1 遺伝子がこの染色体領域に存在する最有力の記憶学習障害候補責任遺伝子であることを証明した。

また本学位論文の成果の一部は、Akbor, M.M., Tomobe, K., Yamada, T., Kim, J., Mano, H., Kurosawa, N., Sasaki, K., Nomura, Y. & Isobe, M., *Biochem Biophys Res Commun* 441, 25-30 (2013)に査読付き論文として掲載され、当該教育分野の審査基準を満たしていることも確認された。

よって本博士学位論文は合格と判定され、申請者は、博士 (工学)の学位を授与するに十分適すると判定された。