

平成 30 年 6 月 2 日現在

機関番号：34504

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18610

研究課題名(和文) 社会性昆虫の労働分業システムにおける個体情報認識機構の解明

研究課題名(英文) Mechanism of task recognition in the division of labor of social insects

研究代表者

北條 賢 (Hojo, Masaru)

関西学院大学・理工学部・准教授

研究者番号：70722122

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：社会性昆虫はコロニーと呼ばれる集団を形成し、強固な分業システムを基盤に集団として適応的に振る舞うことができる。本研究ではクロオオアリを題材に、個体情報を司るシグナルおよびその受容体を同定し、社会性昆虫における労働分業の調節メカニズムを明らかにすることを目的とした。化学分析および行動実験からアリは採餌個体と巣内の個体を体表炭化水素で識別し、採餌タスクを調整していると考えられた。また嗅覚受容体の発現・機能解析からメスで多く発現する受容体が炭化水素を受容する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Social insects have sophisticated societies in which local interactions among individuals facilitate the coordination of group-level activity, and chemical communication is essential for coordination of complex organization, such as a division of labor, in ant societies. To understand behavioral and molecular basis of division of labor, we analyzed regulation of foraging tasks in a carpenter ant. We found that ant colonies regulate the foraging tasks depending on the presence of foragers, and the workers discriminate their tasks based on the differences of cuticular hydrocarbon profiles. Analyses of antennal transcriptome data revealed the specific odorant receptor sub-family which is highly expressed in the female antennae. Electrophysiological experiments suggested that these receptors respond toward the cuticular hydrocarbon components.

研究分野：化学生態学

キーワード：社会性昆虫 ケミカルコミュニケーション

1. 研究開始当初の背景

社会性昆虫はコロニーと呼ばれる集団を形成し、強固な分業システムを基盤に集団として適応的に振る舞うことができる(Oster & Wilson 1978)。分業システムでは集団内のある限られた部位で交わされる局所的な個体間相互作用を介して相手の個体情報を認識し、自身の労働を特殊化させる(Gordon et al., 1992)。労働タスクの特殊化は他個体の行動変化へとフィードバックされ、時間経過とともに集団として適切な分業体制が自己組織的に形成されていく(Bonabeau et al., 1997)。社会性昆虫であるアリでは体表面に存在する炭化水素シグナルの混合物をもちいて、カーストや共生相手を認識していることが知られている。また、体表炭化水素は触覚上の嗅覚感受子で匂い刺激として受容されることが報告されている。このことから、アリにおける分業システムでは各個体がカースト・タスク特異的な化学感覚遺伝子および神経経路を介して他個体の体表炭化水素混合比を識別し、得られた個体情報に基づいて従事する労働タスクを調整していることが考えられる。

2. 研究の目的

本研究ではクロオオアリ *Camponotus japonicus* における労働分業を題材に、化学分析・行動・電気生理実験から個体情報を司る炭化水素シグナルおよびその受容体を同定し、さらにはシグナル受容から行動の特殊化へと至る過程で作用する遺伝子群や神経活動を調べることで、分業を調節するメカニズムを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 採餌タスクの変化

採餌個体の減少によるタスクの変化を確認する為、まず2つのコロニーを用いて1ヶ月間1日2回採餌エリアを観察し、採餌エリアにいる個体にマーキングを施し、採餌に特化した個体(採餌個体)を確認した。その後、マークされた個体を全て取り除き、1ヶ月間新たに採餌エリアに出た個体(新採餌個体)にマーキングを施し、その個体数を記録した。1ヶ月後、採餌個体をコロニーに戻し、採餌エリアにいる新採餌個体の個体数を一週間記録した。

(2) 体表炭化水素の化学分析

マーキングされた採餌個体(N = 35)とマーキングされていない巣内の個体(N = 24)の腹部体表面を SPME ファイバーで 100 回擦り、GC 分析に供した。カラムは DB-1(0.25 mm × 0.25 μm × 30 m)、注入部・検出部の温度は 300°C、カラムは 80°C で 1 分間保持したのち、230°C まで 30°C / min で昇温し、その後 5°C / min で 300°C まで昇温した。得られた体表炭化水素 18 成分の相対量は Bray-Curtis 指数を用いて多次元尺度構成法で解析し、採餌個体と巣内の個体で比較した。

(3) 炭化水素に対する行動実験

採餌個体および巣内の個体の体表炭化水素を抽出し、0.5 頭当量をカバーガラスに塗布し採餌エリアに置いた。カバーガラスに対するアリの行動を 10 分間記録し、カバーガラスに触れる時間を計測し採餌個体と巣内の個体で比較した。各タスクの炭化水素に対する識別能力を調べるために連合学習実験を行った。炭化水素を塗布したカバーガラスに 1 M Sucrose を 5 μl 塗布し、働きアリ 1 頭に 5 回提示した。その後、採餌個体および巣内の個体の炭化水素を塗布したカバーガラスを提示し、カバーガラスに触れる時間を比較した。

(4) 触覚における嗅覚受容体遺伝子の発現解析

働きアリ・有翅女王・雄それぞれの触覚 RNA-seq 解析のデータ(Hojo et al., 2015)から嗅覚受容体の発現量を抽出した。edgeR を用いて DEG 解析を行い、社会行動を示すメス(働きアリ・有翅女王)で発現量の多い嗅覚受容体遺伝子を探索した。

(5) 嗅覚受容体遺伝子の機能解析

雌雄間でもっとも発現量の違いが大きかった嗅覚受容体遺伝子を全長クローニングし、cRNA を合成した。合成した cRNA をアフリカツメガエル卵母細胞に注入し嗅覚受容体を発現させた。卵母細胞を体表抽出物およびそれらの精製物で刺激し、二電極膜電位固定法を用いて受容電位を記録することで、嗅覚受容体のリガンドを探索した。

4. 研究成果

(1) 採餌タスクの変化

採餌エリアを一定期間観察し、マーキングを施した結果、コロニーの限られた個体が採餌に出ていることが示され、採餌に特化した個体を確認することができた。また採餌個体を取り除いた前後 1 週間における採餌エリアのマークなし個体の数を比較したところ、採餌個体を取り除いた後にマークなし個体の数が有意に増加した(図 1A, GLMM, LRT, $\chi^2 = 20.26$, $df = 1$, $p < 0.001$)。さらに、採餌個体をコロニーに戻すと、新採餌個体の数は有意に減少した(図 1B, $\chi^2 = 47.95$, $df = 1$, $p < 0.01$)。このことから採餌個体が不足すると残りのメンバーの一部が採餌へと役割を変えるが、採餌個体をコロニーに戻すと新規採餌個体が採餌に費やす時間は減少し、巣内での活動へと移行することが考えられ、クロオオアリにおいて労働分業が個体間相互作用を介して可塑的に調節されていることが示唆された。

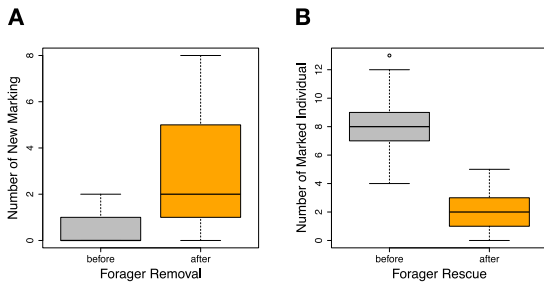


図 1 採餌個体の有無に対する働きアリのタスク変化 (A) 採餌個体除去前後での新採餌個体数の変化 (B) 採餌個体をコロニーへと戻す前と後での新採餌個体数の変化

(2) 体表炭化水素の化学分析

採餌個体と主に巣内で活動する個体の体表炭化水素を比較した結果、2 タスク群の間で炭化水素の量的な違いが確認され、クロオオアリにおいて労働分業に伴う匂いシグナルの変化が示唆された (図 2)。

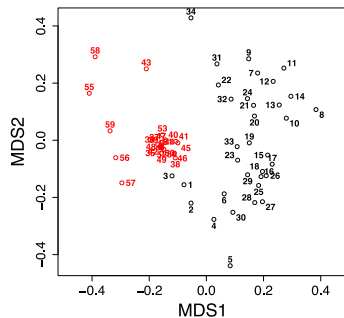


図 2 採餌個体(黒)と巣内個体(赤)の体表炭化水素の相対量に基づく nMDS プロット

(3) 炭化水素に対する行動実験

各タスクの炭化水素精製物を働きアリに提示した結果、巣内で活動する個体の炭化水素に対する接触時間が有意に長かった (図 3A, GLMM, LRT, $\chi^2 = 118.2$, $df = 1$, $p < 0.01$)。また炭化水素と糖報酬を連合させて学習したのち、各タスクの炭化水素提示した結果、アリは学習したタスクの炭化水素に対して有意に長く接触した (図 3B, $\chi^2 = 541.3$, $df = 1$, $p < 0.01$)。以上の結果から、アリが各タスクの炭化水素の量的な違いを識別し、行動を変化させていることが示唆された。上記の実験は抽出物を用いた結果であり、炭化水素標品を用いた実験は今後の課題となった。

(4) 触角における嗅覚受容体遺伝子の発現解析

触角における嗅覚受容体の発現量を各カースト間で比較した結果、メスで有意に多く発現する約 100 の受容体遺伝子が見つかり、分子系統解析の結果、それらの遺伝子は特定のクレードに集約されることがわかった。

(5) 嗅覚受容体遺伝子の機能解析

上記嗅覚受容体の内、雌での発現量が顕著に

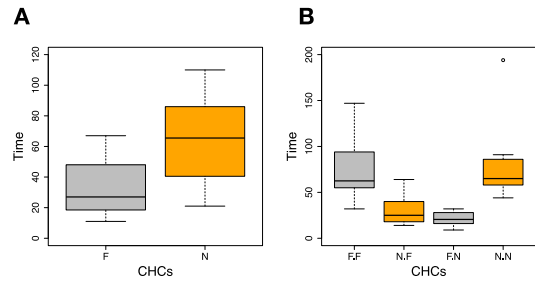


図 3 採餌個体(F)と巣内個体(N)の体表炭化水素に対する働きアリの行動 (A) それぞれの炭化水素を塗布したカバーガラスに対する接触時間 (B) F, N それぞれの炭化水素と糖報酬を学習した個体の炭化水素に対する接触時間

高かった受容体遺伝子の cRNA をアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、電気生理実験を行った結果、発現させた嗅覚受容体はクロオオアリの体表炭化水素画分に強く応答する傾向が見られた。しかしながら測定データのバラツキが大きく、実験方法を再検討した上でデータの再現性を確認する必要がある。また、実験に必要な環境の整備に時間を要した為、炭化水素を受容する神経回路の探索は当初の予定通りに進めることはできなかった。今後、得られたデータを論文化すると共に、個体情報を司る神経機構についてさらに理解を深めていきたい。

<引用文献>

Oster, G. F., & Wilson, E. O. (1979). *Caste and ecology in the social insects*. Princeton University Press.

Gordon, D. M., Goodwin, B. C., & Trainor, L. E. (1992). A parallel distributed model of the behaviour of ant colonies. *Journal of theoretical Biology*, 156(3), 293-307.

Bonabeau, E., Theraulaz, G., Deneubourg, J. L., Aron, S., & Camazine, S. (1997). Self-organization in social insects. *Trends in Ecology & Evolution*, 12(5), 188-193.

Hojo, M. K., Ishii, K., Sakura, M., Yamaguchi, K., Shigenobu, S., & Ozaki, M. (2015). Antennal RNA-sequencing analysis reveals evolutionary aspects of chemosensory proteins in the carpenter ant, *Camponotus japonicus*. *Scientific reports*, 5, 13541.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

① Hayashi M, Hojo MK, Nomura M and Tsuji K, Social transmission of information about

a mutualist via trophallaxis in ant colonies.
Proceedings of the Royal Society B, 査読有
284 (2017) 20171367

- ② Hojo MK, Ishii K, Sakura M, Yamaguchi K, Shigenobu S, Ozaki M, Antennal RNA-sequencing analysis reveals evolutionary aspects of chemosensory proteins in the carpenter ant *Camponotus japonicus*. Scientific Reports, 査読有 5, (2015) 13541 doi:10.1038/srep13541

- ③ Hojo MK, Pierce NE, Tsuji K, Lycaenid caterpillar secretions manipulates attendant ant behavior. Current Biology, 査読有 25, (2015), 2260-2264 doi:10.1016/j.cub.2015.07.016

[学会発表] (計 8 件)

- ① Hojo, M.K., Shigenobu, S., Ishii, K., Yamaguchi, K., Sakura, M., Ozaki, M. Evolution of odorant receptor gene family in social Hymenoptera. 17th International Symposium on Olfaction and Taste, 5 -9 2016
- ② 北條 賢 社会性膜翅目における嗅覚受容体の進化 日本進化学会第 18 回大会 2016
- ③ 北條 賢・重信秀治・光野秀文・石井健一・山口勝司・佐倉緑・神崎亮平・尾崎まみこ 社会性昆虫における体表炭化水素受容体遺伝子の探索 日本昆虫学会第 76 回大会・第 60 回日本応用動物昆虫学会大会合同大会 2016

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：

番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者
北條 賢 (Hojo, Masaru)
関西学院大学・理工学部・准教授
研究者番号：70722122

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者