

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：22604

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19381

研究課題名(和文) 利他行動・利己的行動を駆動するゲノム内対立：社会性昆虫の女王分化での検証

研究課題名(英文) Genomic mechanism of altruistic and selfish behaviors: a test in social insect

研究代表者

岡田 泰和 (Yasukazu, Okada)

首都大学東京・理学研究科・准教授

研究者番号：10638597

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：トゲオオハリアリ、およびシダクロスズメバチにおいて、カースト間で発現がことなる遺伝子を探索するため、それぞれ、成虫と幼虫において、比較トランスクリプトームを行った。トゲオオハリアリについては、個体間相互作用のパターンや活動性の変異の検出を同時に行った。ワーカーと未成熟個体やワーカー同士の接触がワーカーの活動性・活動リズムに影響を与えることを見出した。また、個体間相互作用の一つとして、トゲオオハリアリが口移しでの胃内容物交換(栄養交換)を行うことを発見した。トゲオオハリアリについては、現在までにドラフトゲノム情報が得られ、アノテーションやマッピングを改善するような手法・条件の検討を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

社会性昆虫では、個体間の対立が行動、発生、遺伝子発現などさまざまなレベルで見られる。本研究では、個体間相互作用のパターンを画像による自動認識(トラッキング)を用いて、詳細にデータ化することに成功した。また、ゲノムレベルでの対立構造を解明する上での基本情報となるカースト特異的遺伝子について、トゲオオハリアリおよびシダクロスズメバチにおいて解析をすすめ、カースト分化を左右しうる候補遺伝子を得た。これらの成果は、社会行動や集団での行動パターン・意思決定が生み出される進化的・遺伝的メカニズムの解明の端緒となると考えられ、利他行動・利己的行動を引き起こす遺伝子の広範な種間比較において重要な成果である。

研究成果の概要(英文)：In order to elucidate caste-specific gene expression, RNAseq-based comparative transcriptome was performed in Ponerine ant *Diacamma* sp. and a Yellow jacket, *Vespula* *shidai*. In *Diacamma*, patterns of social interaction and its consequence on behavioral variation was clarified by auto-tracking system. The draft genome of *Diacamma* sp. is being annotated and transcriptomic data is being analyzed.

研究分野：進化生物学

キーワード：カースト分化 社会性昆虫 協力と対立

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

動物は多くの場合、利他的な行為者と利己的な行為者が混在する集団や社会を形成している。とりわけ、社会性昆虫では、女王とワーカーという繁殖・非繁殖カーストを持ち、多くの種では同一のゲノム情報から女王とワーカーが発生・発達してくる。ミツバチを中心として、カースト分化の分子機構は徐々に理解が進んでいるが、種間の共通性や利害対立をふくめた理解はまだ進んでいない。また、ワーカーの中にも活動性の変異(よく動き回る、よく休んでいるなど)や利他行動の程度(外敵にたいして示す攻撃性のレベル)には大きな変異がある。地道な目視観察とともに、画像処理技術などを駆使した徹底的な行動の定量化によって行動変異の基盤情報を取得していく必要がある。カースト分化のメカニズムを解明し、利他的・利己的行動のコロニー内のバリエーションの実態を把握・解明することで、利他者と利己者が分化するメカニズムの解明が期待できる。しかしながら、これらのメカニズムについての知見は非常に限られている。

2. 研究の目的

本研究は、1) 社会を形成する個体間(とくにワーカー間)の行動変異の定量的検出、2) 異なる行動を示す個体に特徴的な遺伝子発現の特定を行うことで、利他行動・利己的行動の変異性とその遺伝基盤を解明することが目的である。

3. 研究の方法

1) 社会を形成する個体間(とくにワーカー間)の行動変異の定量的検出

a) トゲオオハリアリ *Diacamma* sp. では、背中にエナメルペイントでのマーキング(5匹まで識別可能)、バーコードタグの装着(100匹以上まで可能)を行い、撮影画像を計算機処理やソフトウェアで処理することで、各個体の動きや個体間の相互作用(おもに接触)を検出した。さらに、動画の目視観察を組み合わせることで、採餌、育児などより具体的な行動レパートリーも検出した。

b) ヒラズオオアリ *Colobopsis nipponicus* は、野外では枯れ枝の中に営巣する。コロニー内のメジャーワーカーがワインのコルク栓のような頭部をしており、巣口として使う枯れ枝に空いた穴をメジャーワーカーが頭で栓をして塞ぐ、というユニークな生態を持つ。巣内のタスクのうち、この防衛行動に従事している個体が明瞭にわかり、分業のスケジュールを調べるのに適しているため、防衛行動に注目した。頭部にエナメルペイントでマークをし、プラスチックの実験チューブの人工巣に営巣させた。出入り口として穴を空け、ここを塞いでいるメジャーワーカーの個体番号を、ビデオの目視観察で特定し、30分おきに記録した。また、野外での生態を調べるため、営巣している枝にいたワーカーの数、メジャーワーカーとマイナーワーカーの数、巣口の数調べた。

2) トゲオオハリアリにおいては、様々な日齢からなる女王とワーカーの脳及び脂肪体における遺伝子発現を比較し、カースト特異的遺伝子を特定するため、上記の社会行動の変異性を特定する実験とあわせて、各個体の脳及び脂肪体の RNAseq を行った。また、10xGenomics 社の Chromium という技術を用いて、トゲオオハリアリのドラフトゲノム配列を解読した。

多数回交尾の代表種としてシダクロスズメバチ *Vespula shidai* においても女王とワーカーに分化する段階の幼虫の比較トランスクリプトームを行った。

4. 研究成果

トゲオオハリアリにおけるコロニー内の個体間での行動変異については、トラッキング技術と個体間相互作用を駆使した実験(具体的には、ワーカーに対して、卵、幼虫、蛹、内勤ワーカー、外勤ワーカーを同居させ、行動の変遷を見る)から、1) ワーカーは卵、幼虫など未成熟個体の存在下では概日活動を行わなくなる、2) 外勤ワーカーとペアにしたワーカーは概日活動を行わなくなる、を明らかにした。これは、社会的相互作用の内容や相手によって柔軟かつ迅速に概日活動性などの基本的な生理状態が改変されることを示唆している。また、ヒラズオオアリでは、ほとんどのコロニーで巣口を塞ぐ門番役の個体が巣口の数より多く準備されていることを見つけた。さらに、余剰のメジャーワーカー達は交代しながら巣口を守るといった交代勤務をある程度行っていた。一方、観察期間(4日間)のなかで、全く防衛に従事しない働かないアリが相当数存在することもわかった。この事実は、メジャーワーカーの中に大きな行動変異が存在し、ハイリスクな行動をとる個体ととらない個体がいることが示された。

カースト特異的遺伝子の探索については、ごく若い日齢の個体(7日齢まで)については、女王特異的・ワーカー特異的遺伝子をすでに同定し、女王ではインスリンシグナリング関連遺伝子や卵黄タンパク遺伝子、ワーカーではヘキサメリンという栄養貯蔵を行う遺伝子や、脂質合成に関わる遺伝子群が高発現していることがわかった。これらの結果は、女王が産卵にエネルギーをどんどん費やす一方で、ワーカーは若いうちはエネルギーを節約し、蓄積に回すということを示しており、若齢のワーカーが太っていくプロセスとも整合している。さらに、本種において繁殖を促進するドーパミンについて、ワーカーでは女王が巣にいて接触している間は上昇が抑制され、女王との接触がなくなると上昇することを明らかにした。とりわけ、インスリン経路のカースト分化・カースト行動への影響は様々な種で報告が続いているが、種ごとの多様性と共通性についてはやや偏った議論が社会性昆虫の研究業界で散見された。そこでドイツの研究者らと

もに、サイエンス誌において、発表論文に対してコメント・注意喚起の論文を共著で発表した (Schultner et al. 2019, Science, eletters).

なお、当初予定していた、多数回交尾の代表種であるミツバチでの解析は、米国のグループから研究が先行して報告されたこともあり (Galbraith et al. 2016 PNAS)、当方での研究は断念し、系統的に別のグループで多数回交尾を進化させたシダクロスズメバチおよび、1回交尾のトゲオオハリにおけるカースト分化機構を解明し、これらの二種でゲノム内コンフリクトの研究に進めていく方針に切り替えた。

トゲオオハリアリでは、上述の若い個体だけでなく、より利他的に振る舞う高齢個体を用いるとともに、巣内でほとんど仕事をしない非活動個体をトラッキング手法で同定し、RNAseq に用いた。現在、ドラフトゲノム情報とトランスクリプトーム情報を紐付け、精緻な遺伝子発現量解析や遺伝子モデルの推定作業を行っており、アリル得意異性など、より徹底した解析への準備が整ってきた。シダクロスズメバチでは、2つの個体群を用いて、女王とワーカーに分化途中の幼虫で発現する遺伝子を、同様に探索中である。

本研究では、最終目的としてアリル特異的発現の検証を目指していたが、基本的なカースト分化機構の解明や、コロニー内でも利他的に振る舞う個体、利己的に振る舞う個体の行動変異がかなりあり、こうした基本研究や行動データの整理・解析に相応の時間を割いた。これらの成果は行動・生態・進化学の主要なジャーナルに発表されている。したがって、アリル特異的発現やゲノム内対立については今後の課題となったが、基盤となる行動学・分子発生学・ゲノム科学の情報は整った。

原著論文 (特に記載がないものは査読あり)

1) Polyandry and paternity affect disease resistance in eusocial wasps.

Saga T*, Okuno M, Loope K.J., Tsuchida K, Ohbayashi K, Shimada M, Okada Y.

Behavioral Ecology in press

2) Older males are more competitive in male fights and more aggressive towards females in the broad-horned flour beetle *Gnathocerus cornutus*

Okada K, Katsuki M, Kiyose K, **Okada Y**

Behavioral Ecology & Sociobiology (2020) 74:36 <https://doi.org/10.1007/s00265-020-2815-4>

3) A specific type of insulin-like peptide regulates the conditional growth of a beetle weapon

Okada Y*, Katsuki M, Okamoto N, Fujioka H, Okada K.

[PLOS Biology \(2019\) 17\(11\): e3000541.](https://doi.org/10.1093/ploso/17(11):e3000541)

Commentary (査読なしコメント論文)

RE: Evolution of eusociality via a single gene (ilp2)?

Schultner E, Helanterä H, **Okada Y**, Oettler J.

Science, eLetters (14 Apr 2019)

<https://science.sciencemag.org/content/361/6400/398/tab-e-letters>

4) Liquid exchange via stomodeal trophallaxis in the ponerine ants *Diacamma* sp. from Japan

Fujioka H, **Okada Y**.

Journal of Ethology (2019) 1-5.

5) Loser-effect duration evolves independently of fighting ability

Okada K, Okada Y, Dall S, Hosken D.

Proceedings of the Royal Society B (2019) 286: 20190582

6) Observation of plugging behaviour reveals entrance-guarding schedule of morphologically specialised caste in *Colobopsis nipponicus*

Fujioka H, Abe MS, **Okada Y**.

Ethology (2019) 125: 526-534, DOI: 10.1111/eth.12877

7) Ant activity-rest rhythms vary with age and interaction frequencies of workers.

Fujioka H, Abe MS, **Okada Y***.

Behavioral Ecology and Sociobiology (2019) 73.3: 30. <https://doi.org/10.1007/s00265->

8) Rapid development and characterization of EST-SSR markers for the honey locust seed beetle, *Megabruchidius dorsalis* (Coleoptera: Bruchidae), using de novo transcriptome analysis based on next-generation sequencing

Ohbayashi K, Ishikawa N, Hodoki Y, **Okada Y**, Nakano S, Ito M, Shimada M.

Applied Entomology and Zoology (2019) 54(1), 141-145. <https://doi.org/10.1007/s13355-019-00605-5>

9) Ant circadian activity associated with brood care type

Fujioka H, Abe MS, Fuchikawa T, Tsuji K, Shimada M, **Okada Y***.

Biology Letters (2017) 13: 20160743.

10) Queen contact and among-worker interactions dually suppress worker brain dopamine as a potential regulator of reproduction in an ant.

Shimoji H*, Aonuma H, Miura T, Tsuji K, Sasaki K, **Okada Y***.

Behavioral Ecology and Sociobiology (2017) 71: 35.

11) Social dominance alters nutrition-related gene expression immediately: transcriptomic evidence from a monomorphic queenless ant.

Okada Y*, Watanabe Y, Mandy MYT, Tsuji K, Mikheyev AS*.

Molecular Ecology (2017) 26: 2922-2938.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fujioka Haruna, Abe Masato S., Okada Yasukazu	4. 巻 73
2. 論文標題 Ant activity-rest rhythms vary with age and interaction frequencies of workers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Behavioral Ecology and Sociobiology	6. 最初と最後の頁 30-41
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1007/s00265-019-2641-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fujioka H, Abe MS, Fuchikawa T, Tsuji K, Shimada M, Okada Y*.	4. 巻 13
2. 論文標題 Ant circadian activity associated with brood care type	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biology Letters	6. 最初と最後の頁 20160743
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1098/rsbl.2016.0743	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shimoji H*, Aonuma H, Miura T, Tsuji K, Sasaki K, Okada Y*.	4. 巻 71
2. 論文標題 Queen contact and among-worker interactions dually suppress worker brain dopamine as a potential regulator of reproduction in an ant.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Behavioral Ecology and Sociobiology	6. 最初と最後の頁 35
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1007/s00265-016-2263-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Okada Y*, Watanabe Y, Mandy MYT, Tsuji K, Mikheyev AS*.	4. 巻 26
2. 論文標題 Social dominance alters nutrition-related gene expression immediately: transcriptomic evidence from a monomorphic queenless ant.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Molecular Ecology	6. 最初と最後の頁 2922-2938
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1111/mec.13989	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Saga T, Kanai M, Shimada M, Okada Y.	4. 巻 64
2. 論文標題 Mutual intra- and interspecific social parasitism between parapatric sister species of <i>Vespula</i> wasps.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Insectes Sociaux	6. 最初と最後の頁 95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1007/s00040-016-0519-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計6件(うち招待講演 3件/うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Yasukazu Okada, Haruna Fujioka, Kazuki Tsuji, Alexander S. Mikheyev
2. 発表標題 Rapid modification of nutrition-related genes in response to social rank in monomorphic queenless ant
3. 学会等名 国際社会性昆虫学会(IUSSI) 2018年大会(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Haruna Fujioka, Masato S. Abe, Yasukazu Okada
2. 発表標題 Haruna Fujioka, Masato S. Abe, Yasukazu Okada
3. 学会等名 国際社会性昆虫学会(IUSSI) 2018年大会(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masato S. Abe, Haruna Fujioka, Mihoko Otake, Yasukazu Okada
2. 発表標題 Influencers in ant colonies revealed by temporal network analysis
3. 学会等名 Annual Meeting of the Society for Mathematical Biology & the Japanese Society for Mathematical Biology(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤岡春菜、岡田泰和、阿部真人
2. 発表標題 個体-仕事ネットワークでみるアリの労働分業:非活動個体としての専門化
3. 学会等名 日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Haruna Fujioka, Masato Abe, Yasukazu Okada
2. 発表標題 Automatic tracking reveals temporal organization in ant colony
3. 学会等名 日本生態学会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasukazu Okada
2. 発表標題 Rapid modification of nutrition-related genes in response to social rank in monomorphic queenless ant.
3. 学会等名 IUSSI (international society for the study of social insects (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>Yasukazu Okada Research Website https://purpleandorange.jimdo.com</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	土畑 重人 (Dobata Shigeto) (50714995)	京都大学・農学研究科・助教 (14301)	2020年4月より 東京大学総合分化研究科に移動