

令和 5 年 4 月 17 日現在

機関番号：34506

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06080

研究課題名（和文）女王アリの長期間の精子貯蔵に関わる受精嚢内微小環境の解析

研究課題名（英文）Analysis of the microenvironment in the spermatheca for long-term sperm storage in ant queens

研究代表者

後藤 彩子 (Gotoh, Ayako)

甲南大学・理工学部・准教授

研究者番号：70734680

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：多くの種の女王アリでは、交尾後に、オスから受け取った精子を受精嚢の中で10年以上にもわたって保存することが知られている。本研究では、この長期間の精子貯蔵メカニズムを探るため、精子が貯蔵される微小空間である受精嚢リザーバー内の環境に着目した。その結果、受精嚢リザーバー内がほぼ無酸素環境であり、これが貯蔵精子の不動化を引き起こしていることを明らかにした。さらに、人為的に作り出した無酸素環境下では、有酸素環境下よりも精子の生存率を高く維持できた。このことから、受精嚢内のほぼ無酸素環境が、長期間の精子貯蔵メカニズムの鍵のひとつであるといえる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

女王アリが受精嚢内で、非自己であるオスの精子を常温のまま10年以上生存させる現象は、細胞生物学の常識を覆すものである。また、アリ科女王の精子貯蔵能力は極めて特殊であり、高度な社会性をもつアリの繁殖戦略を考える上でも興味深い。

現在、畜産や不妊治療の現場では、家畜やヒトの精子は液体窒素により凍結されて保存されている。女王アリは、液体窒素を使わなくとも常温で長期間精子を貯蔵できるため、女王アリの特殊な精子貯蔵メカニズムが完全に解明されれば、将来、家畜やヒトの精子も低エネルギーかつ高品質で保存できるようになるかもしれない。

研究成果の概要（英文）：Females of social Hymenoptera mate only at the beginning of their adult lives and produce offspring until their death without additional mating. In most ant species, queens live for over a decade, indicating that ant queens can store large numbers of spermatozoa throughout their long lives. To reveal the long-term sperm storage mechanism, I focused on the microenvironment in the spermathecal reservoir. Here, I showed that the spermathecal environment is nearly anoxic, which induces sperm immobilization. Furthermore, artificial anoxic conditions rather than aerobic conditions sustain viable sperm cells. Therefore, near-anoxia is a key factor influencing long-term sperm storage in ant queens.

研究分野：昆虫学、分子生態学

キーワード：精子貯蔵 受精嚢 女王アリ アリ

1. 研究開始当初の背景

社会性ハチ目昆虫(アリ、ハチ)では、女王は羽化後まもない時期にしか交尾しないため、この時に受け取った精子を体内の「受精嚢」の中に寿命が続く限り貯蔵する。アリ科の多くの種の女王の寿命は10年以上と昆虫としては例外的に長寿のため、精子貯蔵期間も10年以上と極端に長い。この特異な繁殖システムの進化は特に高度な社会性をもつアリの生態的繁栄を考える上でも重要である。それに加え、細胞が他者の体内でこのような長期にわたり生存することは細胞生物学の常識を覆すものだが、そのメカニズムは長い間不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、アリ科女王の長期間の精子貯蔵メカニズムを明らかにするために、女王アリの精子貯蔵器官である「受精嚢リザーバー」内の微小環境を網羅的に明らかにした後、精子の生存率を測定することで、精子貯蔵に重要な要素を特定する。

3. 研究の方法

3-1. 無酸素環境による精子の生理状態と生存率への影響

キイロシリアゲアリ (*Crematogaster osakensis*) とハヤシケアリ (*Lasius hayashi*) の女王を用いて、受精嚢リザーバー、胸部、腹部内の酸素濃度を測定した。

次に、人工的な無酸素環境で精子が不動化するかを確かめるため、亜硫酸ナトリウムを用いて無酸素状態にした PBS を作成し、顕微鏡下でキイロシリアゲアリ精子の運動性を評価した。また、有酸素状態の PBS に解糖系と電子伝達系阻害剤を加え、精子の不動化に関わる代謝経路を特定した。また、受精嚢リザーバー内液と精子の pH を測定し、精子不動化への pH の影響を調べた。

さらに、無酸素環境による精子の生存率への影響を調べるために、亜硫酸ナトリウムを用いて無酸素状態にした PBS としていない PBS の中にキイロシリアゲアリ (*Crematogaster osakensis*) 女王から取り出した精子を入れて6時間、1日、7日、10日間保存し、その生存率を比較した。

3-2. 受精嚢リザーバー内で高局在する物質の特定

受精嚢リザーバーサイズが大きいトビイロケアリ (*Lasius japonicus*) 女王を用い、体液と受精嚢リザーバー内液をマイクロキャピラリーにより採取し、プロテオーム解析とメタボローム解析を実施した。

4. 研究成果

4-1. 無酸素環境による精子の生理状態と生存率への影響

キイロシリアゲアリ (*Crematogaster osakensis*) とハヤシケアリ (*Lasius hayashi*) の女王の胸部や腹部内の酸素濃度は15-18%程度であったが、受精嚢リザーバー内の酸素濃度は前者で約0.2%、後者は0%であった。

次に、電子伝達系を阻害する試薬を加えた有酸素状態の液体に精子を入れたところ、不動化される傾向がみられた。また、無酸素環境下で呼吸ができない状態では、通常、細胞は乳酸が蓄積し、酸性状態になる。これまでに、酸性状態では精子運動が阻害されるということがさまざまな動物で報告されている。しかし、キイロシリアゲアリ女王の受精嚢リザーバー内液の pH はアルカリ性であり、さらに、精子は外部の液体の pH に影響を受けていることから、無酸素環境下で精子が酸性になることにより不動化されているわけではないことが明らかとなった。

人為的に作り出した無酸素環境下では、有酸素環境下と比較して、精子は高い生存率を保っていた。このことは、受精嚢で作られているほぼ無酸素環境が、長期間の精子貯蔵を支える大きな鍵の一つであることを示している。ただし、受精嚢から取り出した直後の精子よりも、日を追うごとに生存率が低くなるため、10 年以上にもわたる精子の長期保存には、無酸素環境以外の要因も必要であることが分かった。

4-2. 受精嚢リザーバー内で高局在する物質の特定

トビイロケアリ (*Lasius japonicus*) の女王の受精嚢リザーバーから内液を抽出し、タンパク質組成を体液と比較した。その結果、リザーバー内液に抗酸化酵素や抗菌タンパク質、プロテアーゼやプロテアーゼインヒビター、機能は不明だが発現比が非常に高いタンパクが高局在していた。これまでに、キイロシリアゲアリを用いた RNA-seq 解析で体全体よりも受精嚢で高発現している遺伝子を特定したが (Gotoh et al., 2017)、これらのタンパクはそれらとおおむね一致した。プロテオーム解析と RNA-seq 解析で使用した種は異なる亜科に属する。女王アリの長期間の精子貯蔵はアリ科の初期にはすでに進化していたと考えられることから、これらの共通した分子は、女王アリの精子貯蔵に重要であると考えられる。

本種女王の受精嚢リザーバー内液と体液のメタボローム解析をおこなった。解糖系や TCA 回路に関わる代謝物、糖やアミノ酸を GC/MS で測定し、体液と比較して、リザーバー内液で高局在する物質を特定した。なお、予備実験の段階だが、精子の生存および生理状態に重要である物質を特定しつつある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Gotoh Ayako	4. 巻 2022.11.02.
2. 論文標題 Proteomic analysis of spermathecal fluid reveals factors related to long-term sperm storage in ant queens	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 1~22
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2022.11.02.513948	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Gotoh Ayako, Takeshima Mika, Mizutani Ken-ichi	4. 巻 13
2. 論文標題 Near-anoxia induces immobilization and sustains viability of sperm stored in ant queens	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1~11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-29705-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 IDOGAWA NAOTO, GOTOH AYAKO, DOBATA SHIGETO	4. 巻 5105
2. 論文標題 Morphology of immatures of the thelytokous ant, <i>Monomorium triviale</i> Wheeler (Formicidae: Myrmicinae: Solenopsidini) with descriptions of the extraordinary last-instar queen larvae	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Zootaxa	6. 最初と最後の頁 253~268
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11646/zootaxa.5105.2.5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Gotoh Ayako, Sasaki Ken	4. 巻 52
2. 論文標題 Caste differentiation of spermatheca and organs related to sperm use and oviposition in the honeybee, <i>Apis mellifera</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Apidologie	6. 最初と最後の頁 262~271
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s13592-020-00815-9	査読の有無 無
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14件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 後藤 彩子, 竹島 実加, 水谷 健一
2. 発表標題 アリ科女王における 長期間の精子貯蔵に寄与する因子の探索
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹島実加, 後藤彩子
2. 発表標題 アリ科女王の精子貯蔵器官「受精囊」中に多く含まれる代謝物が精子の生存に与える影響
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 井戸川直人, 後藤彩子, 土畑重人
2. 発表標題 "子"の顔が見てみたい: アリ幼虫の形態と機能の多様性
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 後藤 彩子, 島本 侑奈, 桂 衣里奈, 伊藤 文紀, 奈良崎 泉, 藤岡 桃加
2. 発表標題 アリ類における繭形態の多様性
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹島実加, 後藤彩子
2. 発表標題 高精度かつ迅速で昆虫精子に最適な精子生存判定法の確立
3. 学会等名 日本生態学会第70回全国大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 島本侑奈, 桂衣里奈, 奈良崎泉, 藤岡桃加, 後藤彩子
2. 発表標題 アリ科の爾後端の有無によるワーカーの衛生行動の違い
3. 学会等名 日本生態学会第70回全国大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西村七恵, 柴谷亘, 後藤彩子
2. 発表標題 キイロシリアゲアリにおける女王アリの人工誘導法の確立
3. 学会等名 日本生態学会第70回全国大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 後藤彩子
2. 発表標題 女王アリの長期間にわたる精子貯蔵メカニズムの解明に向けて
3. 学会等名 低酸素研究会2022 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 後藤彩子
2. 発表標題 女王アリの長期間にわたる精子貯蔵メカニズムの解明に向けて
3. 学会等名 有性生殖研究会「生殖の多様性」（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 島本侑奈, 桂衣里奈, 奈良崎泉, 藤岡桃加, 後藤彩子
2. 発表標題 アリ科の菌に対する衛生行動
3. 学会等名 日本生態学会第69回全国大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 後藤彩子
2. 発表標題 アリ科女王の長期間にわたる精子貯蔵メカニズム
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 後藤彩子
2. 発表標題 女王アリの長期間にわたる精子貯蔵メカニズムの解明に向けて
3. 学会等名 生理学研究所研究会 極限環境適応
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鎌田智也, 後藤彩子
2. 発表標題 ハチ目昆虫における受精嚢内精子運動
3. 学会等名 第7回生殖若手の会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鎌田智也, 後藤彩子
2. 発表標題 単独性および社会性狩蜂における受精嚢形態の比較
3. 学会等名 第91回日本動物学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 橋本 佳明	4. 発行年 2020年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 200
3. 書名 外来アリのはなし	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関