

令和元年5月20日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07442

研究課題名(和文) ミツバチの偏光視による進行方向検出における時間補償の神経メカニズム

研究課題名(英文) Neural mechanism of the time compensation for the detection of a navigating direction using the polarized light in the honeybee

研究代表者

岡田 龍一 (Okada, Ryuichi)

神戸大学・理学研究科・学術研究員

研究者番号：20423006

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：偏光知覚によるナビゲーションの中枢と目されている脳内にある中心複合体の神経生理実験および組織学的研究を行った。その結果、ミツバチの中心複合体内に偏光に応答するニューロンが存在することが見つかった。また、中心複合体内におけるGABA介在性シナプスにかかわる受容体のタイプ別の局在を調べた。その結果、イオン型GABA受容体は存在する一方、代謝型GABA受容体はほとんど存在しない可能性があり、中心複合体の抑制性情報処理はイオン型受容体が優性であることが強く推測される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、初めて、ミツバチの中心複合体に特定のe-ベクトルにだけ応答する偏光ニューロンが存在することがわかった。このことは、ナビゲーションにおける方向検出の脳機構解明へつながる大きな一歩になると期待される。また、中心複合体ではイオン型GABA受容体の優位性が見つかったことで、中心複合体の情報処理機構の理解のみならず、イオン型GABA受容体による情報処理の動物種を超えた共通機構が明らかになる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The central complex is a crucial area in the insect brain for navigation using polarized light. Electrophysiology from the central complex exhibited that some central complex neurons responded to polarized light with a specific e-vector preference. Immunohistochemistry in the central complex was performed against iono- and metabotropic GABA receptors, and showed a different distribution between the two types of receptors. Strong positive signals for the ionotropic GABA receptor were found in the central complex while very few and fair signals were found for the metabotropic GABA receptor. This strongly suggests that ionotropic GABA receptor is dominant for information processing in the central complex compared to metabotropic receptor.

研究分野：神経行動学

キーワード：ナビゲーション 偏光 時間補償 ミツバチ 中心複合体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

動物が行う目的地へのナビゲーションの脳メカニズムの解明は現在の神経科学の重要な課題のひとつであるだけでなく、工学分野でも注目されている。ナビゲーションには、自身の位置を把握する「空間把握」と移動中に自らが向いている方向を知る「進行方向検出」が必要である。2014年ノーベル医学生理学賞は空間把握に関わる神経細胞(場所細胞、格子細胞)の発見に与えられた一方、海洋や砂漠などランドマークのない状況で数km~数100km先の目的地へ移動する際に重要な進行方向検出のメカニズムについては不明なことが多い。

ミツバチはランドマークのない状況下でも数km離れた収益性の高い餌場を繰り返し訪問するため、進行方向検出の脳メカニズム研究のよいモデルとなる。これまでの研究から、他の昆虫と同様にミツバチもナビゲーション中の進行方向の検出に、天空にできる偏光パターンを利用していることが有力とされており、複眼の背側部の一部に偏光を受容する視細胞が並んでいることがわかっている。また、昆虫の脳の中心複合体には偏光のeベクトルの方向選択的に応答するニューロンがカラム状に並んでいることから、中心複合体が進行方向検出の中核であるとされている。

一方、偏光パターンによる進行方向検出には、太陽の位置によって天空の偏光パターンが変化する問題を含む。つまり、たとえ偏光パターンから進行方向を定めても、朝と夕方ではパターンの変化分を補償しなければ目的地へは到着できない。そのため、脳内に何らかの時間補償機構があると指摘されているが、今のところその脳メカニズムについてはまったくわかっていない。

2. 研究の目的

時間補償の問題が手つかずになっていたのは、有効な計測方法がなかったことが大きい。時間補償のメカニズムを明らかにするには神経の活動を長時間記録し続けることが必須であるが、従来の計測方法では不可能であった。研究代表者はミツバチの脳から24時間以上にわたって神経活動を記録する方法(埋め込み電極法)を開発し、嗅覚学習時の脳神経の可塑的变化を明らかにした経験をもつ。そこで、この記録方法をもちいれば、時間補償の脳メカニズムを明らかにできると考えた。

さらに、偏光視の中核と目される中心複合体の楕円体はGABAに対する免疫染色で強い陽性を示す。このことは中心複合体での情報処理において抑制性シナプス入力が必要な働きをしていることを示唆する。

以上のことを踏まえ、本研究では、偏光検出の時間補償の脳メカニズムの解明を目的として、中心複合体の偏光に対する神経生理学的研究とGABA関連の神経連絡にもとづく抑制性神経システムの免疫組織化学的研究をおこなった。さらに、海外共同研究としてミツバチの採餌行動を野外で実験するまたとない機会を得たので、この好機を活かして当初は期待していなかった野外でのラージスケールのナビゲーションに関する行動学的研究を追加して行った。

3. 研究の方法

(1) 中心複合体からの電気生理

研究代表者が確立した埋めこみ電極法でミツバチの中心複合体から神経記録を行う。脳を表出させ、中心複合体に極細被覆ワイヤ電極を刺入し、シリコンで頭部をシールする。これにより、安定して24時間以上、神経活動を記録し続けられる。この状態で偏光視の受容部位である複眼背側部に、刺激として偏光のeベクトルを0°から180°までゆるやかに変えて与え、神経応答を記録し、もっとも神経が応答したeベクトル方向を算出する。電極を抜かずに早朝から夕方まで1時間ごとに行い、神経応答の時間変化を得る。記録後に電極先端を染め出し、中心複合体からの記録であることを確認する。

(2) 免疫組織化学的研究

ミツバチのゲノム情報を利用して、イオン型GABA受容体と代謝型GABA受容体の抗体を作成し抗体染色を行い、GABA受容体の脳内分布を調べる。頭部から単離した脳を4%パラホルムアルデヒドで固定し、それぞれの抗体を含む染色液に4で3-5日間浸け、抗体を反応させた。その後、各抗体に対する蛍光指示薬を結合させた2次抗体と反応させ、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。

(3) 行動的研究

巣内のミツバチに個体識別用の番号をつけ、巣内の行動をビデオカメラで撮影、録画した。巣内を暗くするために、ミツバチが知覚できない赤色灯を巣内に設置し、赤外線カメラを用いて撮影した。巣から北および東に300-500m離れた位置に砂糖水入りの人工の給餌器を設置した。それぞれの給餌器の砂糖水はミツバチの採餌状況に応じて濃度を変えた。各給餌器を訪れたミツバチの番号をそのつど記録して、30分ごとに集計した。撮影したビデオからは、ダンスの有無とその向き、ダンス追従の有無と追従したダンス、栄養交換などを解析した。

4. 研究成果

(1) 電気生理学的研究

中心複合体に特定の e-ベクトル方向に応答するニューロンが見つかった。中心複合体にワイヤ電極を埋め込み、刺激の偏光板を回転させて継続的に e-ベクトル方向を変えると、特定の方向の偏光を刺激したタイミングで神経応答が増加した(図1)。これまで、ミツバチの中心複合体には偏光応答性ニューロンは見つかっていなかったため、今回このようなニューロンが存在することがわかったのは大きな成果である。

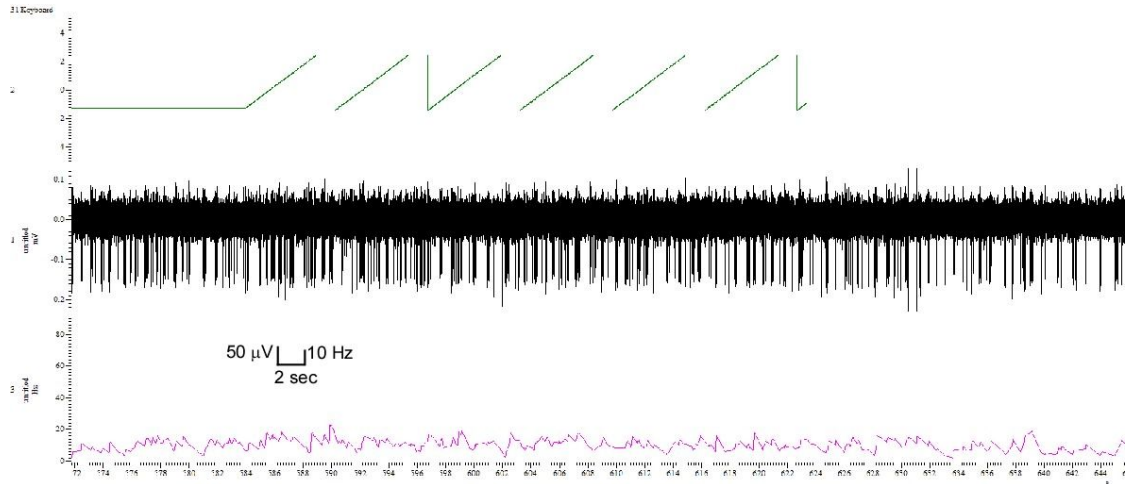


図1 中心複合体の偏光に対する応答。偏光の向き(上段緑の線)の変化に対して神経スパイクの発火頻度(中段)が増減した。下段のマゼンダは神経発火頻度のヒストグラム。

(2) 免疫組織化学的研究

偏光視によるナビゲーションの中核と考えられている中心複合体に着目して、イオン型および代謝型 GABA 受容体に対する抗体染色を施した。ゲノム情報から特異的配列を抽出して作成した抗体で染色したところ、イオン型受容体については、脳の広い範囲でシグナルが観察され、中心複合体内にもレイヤー構造に対応した層状のシグナルが観察された(図2)。また、キノコ体にも強い陽性シグナルが検出された。キノコ体と中心複合体は昆虫の脳の高次中枢であることを考えると、昆虫の脳高次機能にイオン型 GABA 受容体が重要な働きをしていることが示唆される。その一方で、代謝型 GABA 受容体においては、中心複合体には強い陽性シグナルは検出されなかった。このことから、進行方向検出にはイオン型 GABA 受容体が主要な働きをしている可能性がある。受容体のタイプ別に中心複合体内で分布が異なることは、今回新しく発見された知見である。中心複合体の生理機構を解明する突破口になると期待される。

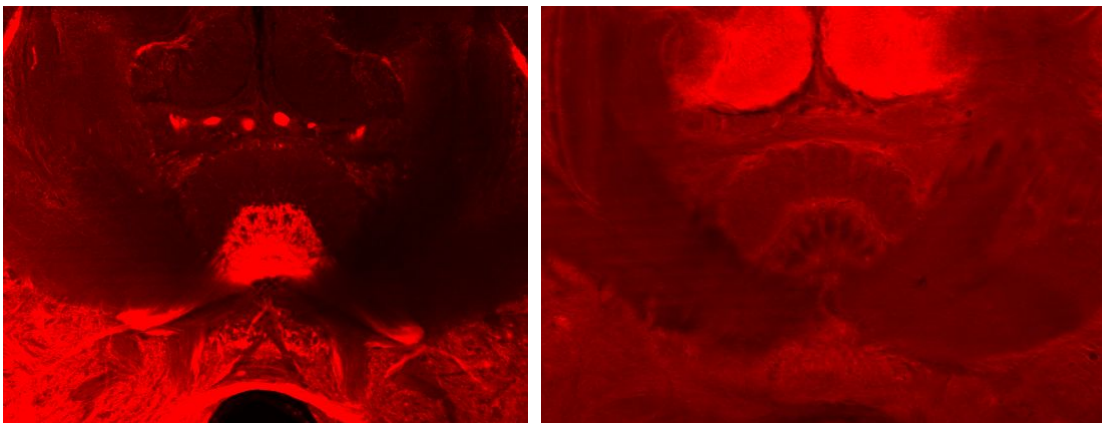


図2 免疫組織化学の結果。GABA(左図)とイオン型 GABA 受容体(右図)に対する抗体染色像。比較しやすいように、中心複合体が写真のほぼ中央同じ位置にくるようにした。

(3) 行動学的研究

尻振りダンスの尻振り方向が1日の時間経過とともに変化した(図3)。同様の現象が、すべてのダンスミツバチで観察された。さらに、給餌器の砂糖水の濃度を急激に変化させ、採餌環境

を変えると、ミツバチは環境の変化に柔軟に適応して訪問する給餌器を変えた。とくに、最初に変化を経験したときは、もともと訪問していた餌場への訪問頻度が急激に減少し、他方の給餌器を示すダンスに数回追従することで他方の餌場へ採餌することがわかった。これらのことは、ミツバチ体内に時間補償システムがあることを強く示すものであり、このようなラージスケールでの野外実験で実測データを得たことは、今後の研究にとってとくに貴重なことである。

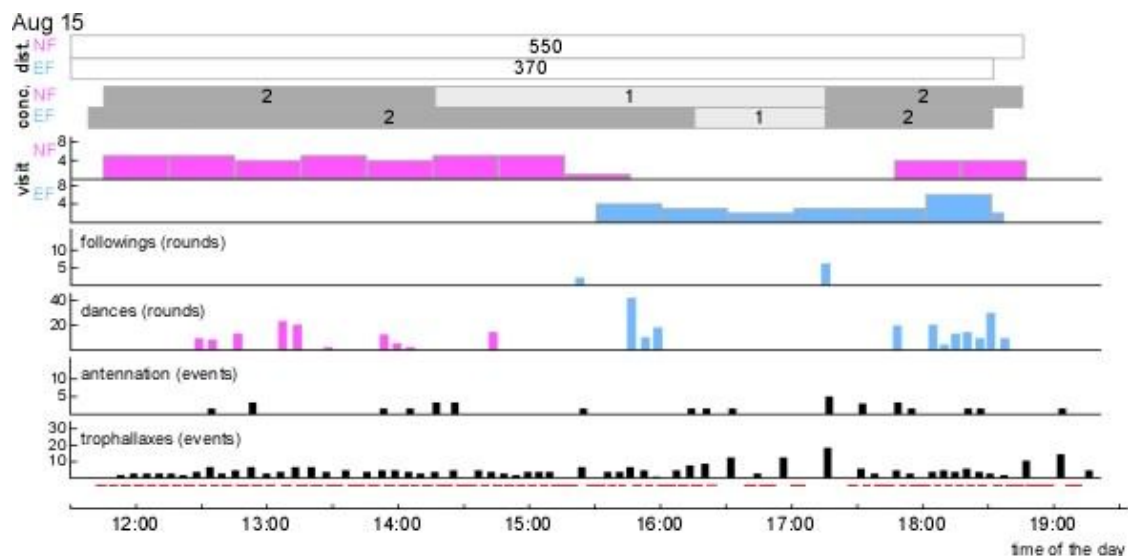


図3 採餌行動と巣内での社会性行動の関係の例。餌場への訪問、ダンス追従、ダンス、他個体とのアンテナション、栄養交換の回数を示している。マゼンダは北の餌場、青は東の餌場に関連する出来事。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

1) Kimura T, Ohashi M, Crailsheim K, Schmickl T, Okada R, Radspieler G, Isokawa T, Ikeno H. (2019) A heuristic trajectory decision method to enhance the tracking performance of multiple honeybees on a flat laboratory arena. *Trans ISCI* 32: 113-122. 査読あり

2) Okada R, Pham DL, Ito Y, Yamasaki M, Ikeno H. (2018) Measuring the flight ability of the ambrosia beetle, *Platypus quercivorus* (Murayama), using a low-cost, small, and easily constructed flight mill. *J Vis Exp* 138: e57468, DOI: 10.3791/57468. 査読あり

3) Pham DL, Ito Y, Okada R, Ikeno H, Isagi Y, Yamasaki M. (2017) Phototactic behavior of the ambrosia beetle, *Platypus quercivorus* (Murayama) (Coleoptera: Platypodidae), before and after flight. *J Insect Behav* 30: 318-330. doi: 10.1007/s10905-017-9615-3. 査読あり

4) 佐倉緑、岡田龍一 (2018) ミツバチの天空コンパスナビゲーション-空を見て方向を知るしくみ、*生物の科学 遺伝*、72: 2-6. 査読あり

5) 岡田龍一 (2017) 昆虫の脳と匂いの記憶、*アグリバイオ* 1 (2): 76-81. 査読なし

〔学会発表〕(計 2 5 件)

1) Chen X, Okada R, Walter S, Sakura M, Xing Y, Menzel R (2019) Life history of navigational exploration and social communication in honeybees. The 13th Göttingen Meeting.

2) Sakura M, Onishi H, Okuyama A, Matoba N, Kobayashi N, Okada R (2018) Honeybees choose their way to home using e-vector information from the sky. The 13th International Congress of Neuroethology.

3) 岡田龍一 (2018) ダンス追従バチの巣内でのふるまい、*ミツバチシンポジウム*

4) 岡田龍一 (2017) ミツバチの尻振りダンスにかくされた餌集めの工夫、*ミツバチ科学研究会*

5) Okada R, Ikeno H, Aonuma H (2017) Behavior of follower bees in a hive before departure

after the dance communication. 日本比較生理学会

6) 佐倉緑、奥山晶子、的場なつみ、小林宣弘、岡田龍一(2017)ミツバチは天空のeベクトル情報に基づいて飛行方向を決定する、日本動物学会

〔図書〕(計 1件)

1) 岡田龍一(2019)7.46 中枢による発音の制御、「生き物の音の事典」、高梨琢磨,松尾行雄,力丸裕,宋文杰,小池卓二,小田洋一,市川光太郎,相馬雅代,関義正編、朝倉書店、2019年 発刊予定

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ

<http://www2.kobe-u.ac.jp/~okd/>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：佐倉 緑

ローマ字氏名：(SAKURA, Midori)

所属研究機関名：神戸大学

部局名：理学部

職名：准教授

研究者番号(8桁): 60421989

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。