

令和 2 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19326

研究課題名（和文）砂漠アリの高温下における代謝恒常性維持を可能とするメカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the thermotolerant mechanism of silver ants for metabolic homeostasis

研究代表者

小幡 史明（Obata, Fumiaki）

東京大学・大学院薬学系研究科（薬学部）・講師

研究者番号：40748539

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）：本研究では、高い熱耐性を持つ事が知られる砂漠アリ *Cataglyphis bombycina* が、研究室条件においても、70度のホットプレート上で10分以上も生存することが認められた。さらに *Camponotus japonicus* や *Formica japonica* などの国産のアリの熱耐性を見たところ、非常に脆弱である事が確認された。そこでこれらの種において高温下で変動する代謝物の分析を行った。その結果、当該アリが高温に晒された際に増加あるいは減少する代謝物を複数同定する事が出来た。熱耐性を持たないアリとの比較解析から、*C. bombycina* ではむしろ代謝変動が少ないことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、高温耐性を有する砂漠アリの特徴的な恒常性を測ることにより、代謝恒常性に根ざした生理学的な知見を得る事が出来た。代謝分析を通して、分子レベルでの熱応答を記述した事で、高い熱耐性を可能とする機構について新たな知見を得る事が出来た。これらを熱耐性を有しないアリ複数種と比較することにより、進化的にも比較生理学的にも重要な知見を得る事が出来た。今後の解析により、さらに分子機構を明らかにする事で、未知の代謝恒常性機構や生物の生存戦略について理解する事が可能となる。

研究成果の概要（英文）：This study confirmed that a thermotolerant desert ant *Cataglyphis bombycina* survived more than ten minutes on a hotplate with 70 degree celcius in laboratory condition. The survivability was strikingly different from other non-thermotolerant indigenous species, such as *Camponotus japonicus* and *Formica japonica* tested in the same condition. We then performed metabolome analysis to quantify the metabolite levels during heat treatment. This identified several metabolites up- or down-regulated under high temperature in *C. bombycina*. It also showed the ant species had stable metabolome compared to the other non-thermotolerant species.

研究分野：分子生理学

キーワード：Cataglyphis 熱耐性 アリ ショウジョウバエ 代謝物

1. 研究開始当初の背景

いくつかの生物は休眠、冬眠といった、特殊な仮死状態に入ることによって厳しい環境中での生存を可能とすることが知られている。特に昆虫は変温動物であることから、そのような極限環境では、外気温と同じ温度まで体内温度が変化すると考えられる。これまで調べられている中で、最も高温に耐性をもつ昆虫の一つが、*Cataglyphis bombycina* などの砂漠に住むアリである。これらの砂漠アリは、温度条件の比較的マイルドな地中の巣の中で生活しているが、その働きアリ(ワーカー)は、55 度付近の外気温下で、10 分近く活動することが観察されている。高温環境に適応するためには、優れた耐熱応答システムを備えなければならないが、その機構はほとんど明らかになっていない。

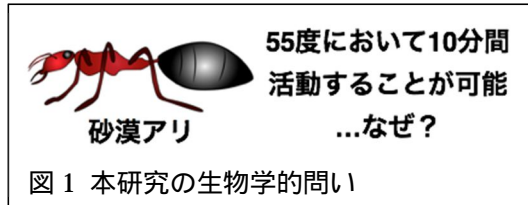


図1 本研究の生物学的問い

2. 研究の目的

本研究では、*C. bombycina* を代表とする砂漠アリが高温下での生存・活動を可能とする分子機構を解明することを目指す。その為に、本種および近縁種あるいはショウジョウバエなどの熱耐性を持たない昆虫との相違点を明らかにするための、基礎的な実験プラットフォームを確立する。特に代謝恒常性をキーワードとし、LC-MS によるメタボロミクスを通じて、特徴的な代謝物・代謝経路を同定する。

3. 研究の方法

サンプリングに関しては、それぞれ Macquarie University(オーストラリア)の Ken Cheng 博士、Université Libre de Bruxelles(ベルギー)の Serge Aron 博士に協力してもらえらる確約を得ており、ある程度まとまった量のワーカーサンプルが確実に手に入る予定である。コロニーを採取することにより、数ヶ月から数年コロニーを維持し、ワーカーを解析する。

基本的な代謝経路(<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>)は、バクテリアからヒトまで高度に保存されているはずである。また、微妙に異なる配列や大きさをもつゲノム情報と違って、主要な代謝産物は異なる種間で全く同じ構造を持っているため、ショウジョウバエやヒトの解析に使う技術と全く同じ技術がすぐに適用できるという利点を持っている。

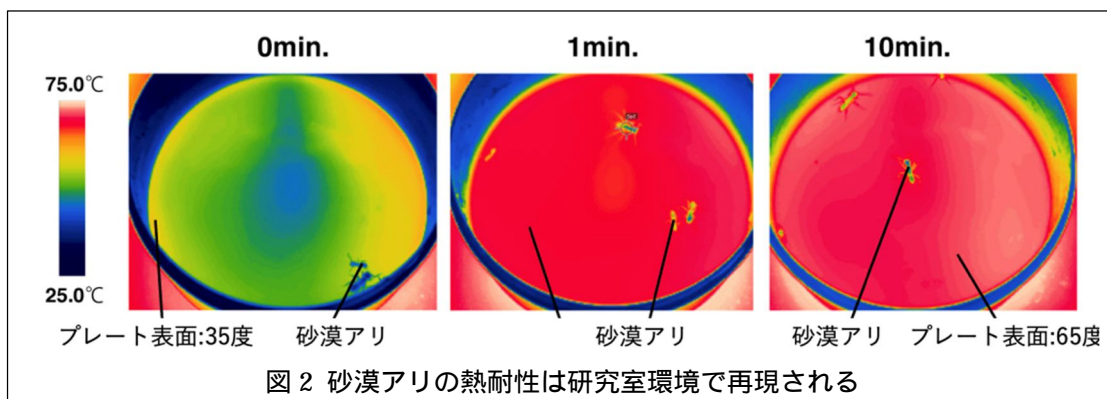
そこで本研究では砂漠アリ 2 種と、その比較の為の類縁種、日本で維持されているいくつかのアリ系統、ショウジョウバエ野生型系統のそれぞれに対して、代謝物を網羅的に定量する。砂漠アリも普段は地中の(25 度付近の)比較的マイルドな温度条件下に生存することから、室温(25 度条件)および高温(37 度・50 度)に 5 分さらした場合の代謝産物を比較することで、高温耐性をもつ 2 種に特徴的な代謝変動を抽出する。特定の代謝物の蓄積が見られた場合、その当該代謝物を、熱耐性を持たないアリやショウジョウバエに摂食させることで熱耐性を獲得するかどうかを検討する。

特に大きな変動がみられた代謝経路は、その生理的な意義を明らかにするため、機能解析をおこなう。ショウジョウバエをもちいて、同じ代謝経路を遺伝学的に操作した場合の熱耐性への影響をみる。同時に、砂漠アリの同じ代謝酵素遺伝子を、次世代シーケンサーによるゲノム情報取得、古典的な分子生物学的手法で決定する。得られた酵素の全長遺伝子を大腸菌での組換えタンパク質として発現させ、生化学的な性状解析をおこなう。また、ショウジョウバエに、砂漠アリの酵素を異所発現し、その熱耐性への影響をみると同時に、個体の生理状態を記述する。これらの解析を通して、砂漠アリに特徴的な代謝変動をおこすメカニズムと、その生理的な意義を解明する。

4. 研究成果

本研究では、まず高い熱耐性を持つ事が知られる砂漠アリ *C. bombycina* を、研究室にて数ヶ月以上飼育し、その飼育条件においても、熱耐性を有しているかを確認した。*C. bombycina* およびその近縁種 *C. cursor* は、共同研究者である Université Libre de Bruxelles(ベルギー)の Serge Aron 博士から分与された。500 匹近いワーカーからなるコロニーを 3 コロニーほど研究室にて飼育した。飼育温度や、餌条件、飼育箱等について検討を重ね、一般的なアリ飼育と同様の方法でその飼育が可能である事を確認出来た。餌については、炭水化物源として 5% の Sucrose 溶液を、タンパク質源として冷凍死滅させたショウジョウバエ個体を週に 1 度与えた。栄養の偏りを軽減するため、週に 1 度、昆虫ゼリーを与えた。この条件で、いくつかの方法により熱耐性を検討した。その結果、試験管に閉じ込めた状態で 45 度に設定した湯浴に試験管ごと浸した状態で 10 分以上生存することが確認出来た。また、継時的な体表面温度を測定する目的で、80 度に

設定したホットプレート上に置いたプラスチックシャーレ(表面温度 65 度)の上で 10 分以上生存可能であることが認められた。興味深いことに、体表面温度は 43 度程度まで上昇した後、その上昇スピードが急激に減弱し、個体が死ぬとその温度は一気に 60 度近くまで上昇した(図 2)。さらに *Camponotus japonicas* や *Formica japonica* などの国産のアリでは、ほとんど熱耐性を示さない事が確認された。このことから、研究室条件で長期的に飼育した場合でも、*C. bombycina* の熱耐性は獲得された状態であることが確認出来た。



そこでこれらの高温下条件において変動する代謝物の分析を行った。その結果、当該アリが高温に晒された際に増加あるいは減少する代謝物を複数同定する事が出来た。個体全体のメタボロームおよび、頭部だけのメタボロームのどちらか、あるいは両方で、増減が認められる代謝物を同定している。これらの代謝物について、その変化が *C. bombycina* に特徴的であるかどうかを解析するため、*C. cursor*、*C. japonicas*、*C. obscuripes*、*F. japonica*、*F. hayashii* などの熱耐性をそれほど有しないアリ、さらにショウジョウバエと比較検討を行った。予想しない事に、*C. bombycina* において高温下で変動する代謝物の多くは、熱耐性を持たない種においても共通して変動する事が分かった。さら興味深いことに、他の生物種において大きく変動する代謝物の多くはむしろ *C. bombycina* では変動しないことが明らかとなった。したがって、代謝変動を抑制することが熱耐性に寄与する可能性を明らかにできた。

しかし、今回同定できた代謝物は 70 個程度であり、また、未知の代謝物の変動も示唆されるため、より広範なメタボロームを行う必要が示唆された。そこで、ガスクロマトグラフィー質量分析計(GC-MS)による代謝分析系を構築した。

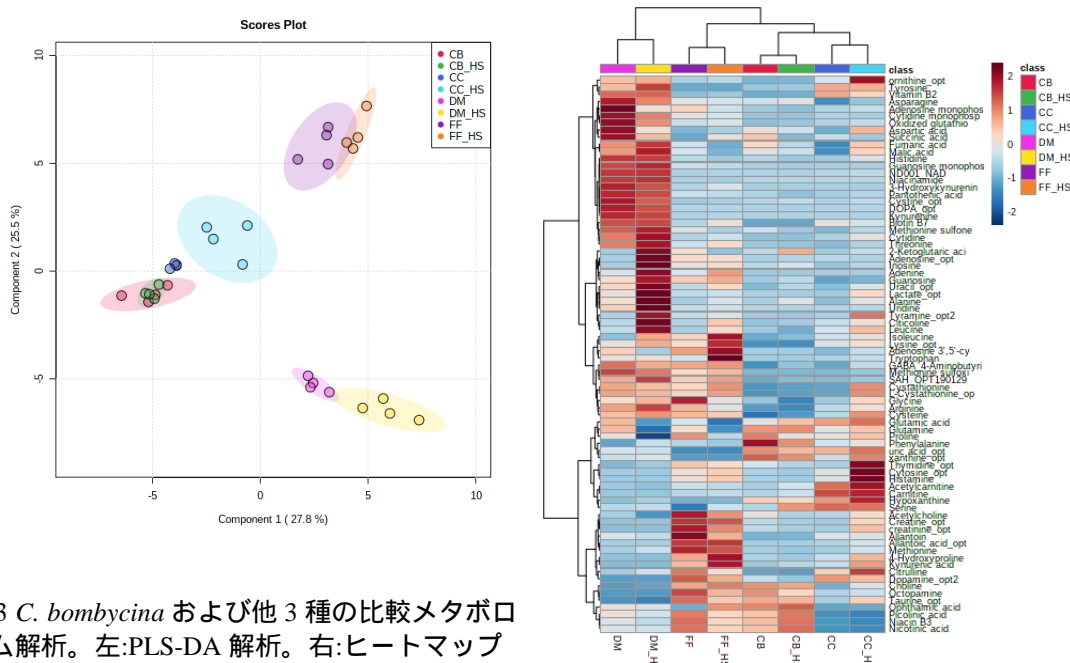


図 3 *C. bombycina* および他 3 種の比較メタボローム解析。左:PLS-DA 解析。右:ヒートマップ

代謝物量あるいは代謝活性は、腸内細菌によっても影響する。砂漠アリに特徴的な腸内細菌の存在を検討するため、16S rRNA アンプリコンシークエンシングを用いた腸内細菌の網羅的解析を行った。驚くべきことに、砂漠アリの腸内細菌は、99%以上が単一の *Acetobacteraceae* に属する種のみであった。また、いくつかのプレートにより嫌氣的・好氣的条件で培養したコロニーを

観察すると、ほとんどコロニーが認められず、得られたコロニーもやはり Acetobacteraceae に属する菌種のみ認められた。さらに抗生物質による処理で、腸内細菌を除去しても、熱耐性に大きな影響は認められなかったことから、砂漠アリの熱耐性は、腸内細菌とは独立している可能性が示唆された。

昆虫のような比較的高等なシステムをもつ多細胞生物が、10 分間という限られた時間ではあるにせよ 55 度という高温に耐えられるのは異常とも言える。本研究により、高温耐性を有する砂漠アリの特徴的な恒常性を測ることにより、代謝恒常性に根ざした生理学的な知見を得る事が出来た。代謝分析を通して、分子レベルでの熱応答を記述した事で、高い熱耐性を可能とする機構について新たな知見を得る事が出来た。熱耐性を有しないアリ複数種と比較することにより、進化学的にも比較生理学的にも重要な知見を得た。今後の解析により、さらに分子機構を明らかにする事で、未知の代謝恒常性機構や生物の生存戦略について理解する事が可能となる。生物学的に非常に興味深い内容でありながら、ほとんど明らかになっていない砂漠アリの高温耐性メカニズムを知ることは、これまでに我々が予想もしないような新たな恒常性維持機構を発見する可能性を含有しており、それ自体重要な意義を孕んでいると思われる。長期的には、高熱に対する抵抗性機構を知ること、例えば近年増加している高齢者の風呂場でのヒートショック死対策などへの医療的応用も期待できると考えられる。地球温暖化社会の中で、ますます上昇し続ける気温に対して、砂漠アリのような高熱耐性を持つ生き物の恒常性機構を理解することは非常に重要になってくると想像される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小幡史明
2. 発表標題 高熱耐性をもつ砂漠アリのメタボローム解析
3. 学会等名 第19回極限環境生物学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----