

機関番号：82112

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008 ~ 2010

課題番号：20580057

研究課題名 (和文) 昆虫の腹脚の過剰発現による神経系の再構成過程

研究課題名 (英文) Neural re-construction in insects expressing supernumerary prolegs

研究代表者

谷合 幹代子 (TANIAI KIYOKO)

独立行政法人農業生物資源研究所 制御剤標的遺伝子研究ユニット 上級研究員

研究者番号：60370665

研究成果の概要 (和文)：200 字程度

カイコの過剰腹脚発現による神経系の再構成や行動への影響を調査した。変異個体では、幼虫期に腹脚運動ニューロンが腹部第2神経節内に存在し、体表には過剰な機械感覚毛が存在した。変異個体の腹脚步行パターンの解析では、歩行周期を一定に維持する調整機構が示唆された。変異個体では、幼虫期の神経節の異常が、変態期の神経節の短縮・融合を阻害し、成虫期に分離した後胸神経節を形成し、オスの配偶行動に影響を与えた。

研究成果の概要 (英文)：

Influences of neural re-construction and behaviors in a silk moth with expression of supernumerary prolegs were investigated. In mutant individuals, the proleg motor neurons were appeared in the larval second abdominal ganglion, and additional mechanosensory hairs were distributed in the second abdominal segment. Analyses of the walking pattern with prolegs suggest adjustments of walking cycles to maintain a particular length of the cycle period. An abnormal structure of the ganglion in mutant larvae inhibited ganglionic shortening and fusion in metamorphosis, resulted in separated metathoracic ganglion and influenced mating behaviors in adult males.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・応用昆虫学

キーワード：昆虫行動・昆虫神経生理

1. 研究開始当初の背景

動物の神経系は、外的刺激に対して適切な行動をとるために、感覚系・指令系・運動系がデザインされており、それらは種の特異的な外部形態の制約を大きく受けている。特に、付属肢は筋肉の付着した運動

器官であるとともに、様々な感覚器も備えているので、その構造が遺伝的な突然変異で変化すると、神経系の構成にも大きな影響を与えると予想される。カイコガでは、幼虫期の付属肢の数や形態に異常が認められるホメオティック突然変異が、60年以上も前から記載され、様々な系統が現在

も維持されている（佐々木 1940; 市川 1952）。これらの突然変異系統を用いた神経系の機能・形態に関する研究は、遺伝子から神経系の形態形成、行動の変異までを追究できる理想的な実験系であると考えられるが、そのような観点から神経生理学的手法を用いて取り組んだ研究はほとんど無い。

2. 研究の目的

昆虫の発生初期における形態形成異常が、幼虫期から成虫期における神経系の形態形成と行動の異常を導くことを、カイコガの過剰腹脚の突然変異系統(E^{No})を用いることによって神経生理学的手法により証明する。そのために、形態形成変異系統における幼虫・成虫期の異常な行動の解析とともに、行動に影響を与えると考えられる胸・腹部神経節内の構造や運動ニューロン・神経節間介在ニューロンの分布について、電気生理学的手法、神経染色法、組織培養法等を用いて調査する。

3. 研究の方法

本研究では、カイコガの形態形成変異系統(E^{No})における幼虫・成虫期の行動異常の解析とともに、行動と関係すると考えられる胸・腹部神経節内の構造や運動ニューロンの分布について、電気生理学的手法、神経染色法、組織培養法等を用いて調査した。

(1) 幼虫期の腹脚歩行パターンの行動解析

正常・変異個体における腹脚の歩行をビデオで撮影し、歩行周期、各腹脚のスイング時間、前脚との歩行開始時間の差を解析した。

(2) 幼虫期の腹部第2・3神経節の運動ニューロンの形態調査

正常・変異個体における腹脚運動神経、あるいはその相同神経からコバルトバックフィル染色を行った。

(3) 幼虫期の腹部第2・3神経節の機械感覚毛の分布調査

正常・変異個体における腹部第2・3節上の機械感覚毛を撮影し、その分布と数を調べた。

(4) 幼虫期から成虫期における神経節の形態の定量的解析

終齢幼虫期後期から成虫期にかけての神経節の融合の程度を調べるために、幼虫期中胸神経節から腹部第2神経節までを異なる変態ステージで撮影し、神経節間の長さを測定し、正常・変異個体間で比較した。

(5) 組織培養条件下での神経節短縮の再現

組織培養条件下において、変態期の神経節短縮を再現し、エクジステロイドに対する縦連合の短縮率を調べ、正常・変異個体間で比較した。

(6) 成虫期オスの羽ばたき運動パターンの電気生理学的解析

成虫期オスの正常・変異個体において、交尾前後の羽ばたき行動に違いが見られたので、背縦走筋から筋電位を記録し、交尾前後で比較した。

(7) 成虫期オスの交尾による羽ばたき運動パターン切替えの情報源の特定

成虫期オスの正常・変異個体において、頭部切除・腹部後方切除・腹部後方瞬間冷却を行い、羽ばたき運動パターンへの影響を調べた。

(8) 成虫期オスの胸部神経節・腹部神経節間ニューロンの形態の系統比較

成虫期オスの腹部神経節から胸部神経節に入るニューロンをバックフィル染色し、その形態を正常・変異個体間で比較した。

4. 研究成果

(1) 幼虫期の腹脚歩行パターン

尾脚から最前脚までの一連の前方向への歩行を周期とし、正常・変異個体間で比較したところ、変異個体では一対腹脚が多いにもかかわらず、歩行周期に有意な差は見られなかった。各腹脚のスイング時間を正常・変異個体間で比較した場合も有意な違いは見られなかった。前脚からの開始時間のずれを比較すると、変異個体では腹部第3節の腹脚で開始時間が有意に早かった。変異個体の腹脚歩行パターンには、歩行周期を調整する機構があると考えられた。

(2) 幼虫期の腹部第2・3神経節の運動ニューロンの形態

過剰腹脚を支配する腹部第2神経節での運動ニューロンの分布を正常・変異個体間で比較した。後方神経を通る運動ニューロンは、その細胞体の位置から、正常・変異間で共通するニューロン群(A・B・C・D群)と変異個体のみに見られるニューロン群(E群)に分類できた。E群の運動ニューロンは変異個体の第2神経節と第3神経節の両方で確認された。E群は2個のニューロンからなり、腹脚の筋を支配していると考えられる。運動ニューロンの分布からも変異個体の腹部第2節が第3節化していることが示唆された。

(3) 幼虫期の腹部第2・3神経節の機械感覚毛の分布

過剰腹脚が発生する腹部第2体節での機械感覚毛の分布を正常・変異個体間で比較した。腹脚領域とそれ以外の領域に分布する機械感覚毛数は、変異個体でそれぞれ有意に多く、その数は変異個体の腹部第3節における数とほぼ同じであった。これらの感覚毛の基部には感覚ニューロンが存在することが確かめられた。この結果から、変異個体の腹部第2節が第3節化していることが示唆された。

(4) 幼虫期から成虫期における神経節の形態変化

幼虫の中胸・後胸神経節および腹部第1・2神経節は、成虫では一つの後胸神経節に再構成される。神経節間距離の測定を幼虫期後期から成虫期にかけて行ったところ、変異個体では、蛹化0日目から後胸から腹部第2節までの距離が有意に長く、融合が不完全になることがわかった。

(5) 組織培養条件下での神経節短縮

吐糸直後とガットページ1日後の幼虫から胸・腹部神経節を摘出し、組織培養を行った。20-ヒドロキシエクダイソンの濃度に依存して、神経節の短縮が促進されたが、異常・正常個体間で短縮の違いは見られなかった。

(6) 成虫期オスの交尾中の羽ばたき運動パターン

雄成虫は連続的な羽ばたきをしながら雌へ定位し交尾すると、一時的な静止の後に断続的な羽ばたきを行う。この羽ばたき運動を飛行筋の活動パターンにより解析すると、交尾前・中の基本的な羽ばたき運動周期には差がないため、正常個体の交尾中には周期的な抑制があると考えられた。また、変異個体にはこの周期的な抑制がないことが分かった。

(7) 成虫期オスの交尾による羽ばたき運動パターン切替の情報源

成虫オスの交尾時に、頭部・腹部の切除や腹部後方の冷却麻酔を行ったところ、交尾時の羽ばたき運動パターンは、頭部切除の影響を受けず、腹部後方からの入力により、断続的なパターンが形成されることがわかった。変異個体では羽ばたき開始の信号が腹部後方から胸部神経節へ正常に伝えられ、断続的なパターン形成が正常に形成されないことがわかった。

(8) 成虫期オスの胸部神経節・腹部神経節間ニューロンの形態

変異個体では成虫期の中・後胸神経節が分離していたことから、正常個体と相同なニュー

ロンの形態を比較するために、胸部-腹部神経節縦連合からコバルトバックフィル染色を行った。正常・異常個体間で相同なニューロンが確認でき、変異個体の分離した神経節においても、神経節間介在ニューロンの細胞体の位置や樹状突起の形態は類似していた。しかし、変異個体では、各神経節内の構造がそのまま残り、正常個体ではその構造が一つの神経節内に収まり、ニューロン間の接合が密になっていた。この違いが、オスの腹部由来の交尾信号と羽ばたきパターン形成回路との連絡に関係し、変異オスにおける交尾時の羽ばたきパターンの異常の原因になっていると考えられる。

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11件)

Inoue T.A., Asaoka K., Seta K., Imaeda D., Ozaki M., Sugar receptor response of the food-canal taste sensilla in a nectar-feeding swallowtail butterfly, *Papilio xuthus*. *Naturwissenschaften*, 査読有, vol. 96, 2009, p355-363.

Sasaki K., Yamasaki K., Tsuchida K., Nagao T., Gonadotrophic effects of dopamine in isolated workers of the primitively eusocial wasp, *Polistes chinensis*. *Naturwissenschaften*, 査読有, vol. 96, 2009, p625-629.

佐々木謙, 生体アミンの経口摂取による有用昆虫の行動操作. *The New Food Industry*, 査読無, vol. 52, 2009, p76-82.

Sasaki K., Abe T., Yoshida Y., Asaoka K., A homeotic mutation influences the wing vibration patterns during mating in males of the silkworm moth *Bombyx mori*. *Journal of Insect Physiology*, 査読有, vol. 55, 2009, p726-734.

朝岡潔, 太田広人, 佐々木謙, チョウ目昆虫幼虫の摂食行動制御における味覚と生体アミンの関与. *野蚕*, 査読無, vol. 64, 2009, p12-14

佐々木謙, 社会性昆虫における繁殖制御の生理・分子メカニズム. *比較生理生化学*, 査読有, vol. 27, 2010, p3-9.

Nishi Y., Sasaki K., Miyatake T., Biogenic amines, caffeine and tonic immobility in *Tribolium castaneum*. *Journal of Insect Physiology*, 査読有, vol. 56, 2010, p622-628

Akasaka S., Sasaki K., Harano K., Nagao T., Dopamine enhances locomotor activity for mating

in male honeybees (*Apis mellifera* L.). Journal of Insect Physiology, 査読有, vol. 56, 2010, p1160-1166.

Sasaki K., Harano K., Multiple regulatory roles of dopamine in behaviors and reproduction of social insects. Trends in Entomology, 査読有, vol. 6, 2010, p1-13.

赤坂真也, 佐々木謙, 原野健一, 長尾隆司, 繁殖に向けたオスの行動発達とその内分泌メカニズム. ミツバチ科学, 査読無, vol. 28, 2010, p21-28.

大喜裕二・朝岡潔・佐々木謙, 昆虫の咀嚼運動を修飾する外的・内的要因. The New Food Industry, 査読無, vol. 53, 2011, p51-58.

[学会発表] (計8件)

佐々木謙, 阿部剛久, 吉田祐太郎, 朝岡潔, カイコガ形態形成変異系統における雄の羽ばたきパターン切替の異常. 日本比較生理生化学会第30回大会, 2008年7月19日, 北海道大学理学部(北海道札幌市).

朝岡潔, 佐々木謙, 吉田祐太郎, 荒屋賢治, カイコE^{MC}系統における雄成虫の交尾中の羽ばたきパターンの異常. 平成21年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会 日本蚕糸学会第79回大会, 2009年3月22日, 東京農工大学農学部(東京都府中市).

朝岡潔, 太田広人, 佐々木謙, チョウ目昆虫幼虫の摂食行動制御における味覚と生体アミンの関与. 第15回日本野蚕学会, 2009年6月21日, 富岡製糸場(群馬県).

佐々木謙, 繁殖制御の内分泌機構とその進化. 第69回日本昆虫学会 公開シンポジウム, 2009年10月11日, 三重大学(三重県).

佐々木謙, 阿部剛久, 吉田祐太郎, 朝岡潔, ホメオティック突然変異による雄カイコガ交尾中の羽ばたき異常. 第31回日本比較生理生化学会, 2009年10月23日, 千里ライフセンター(大阪府).

佐々木謙, 遠藤祐紀, 朝岡潔, ショ糖やイノシトールによるカイコ幼虫の飲み込み運動パターンの修飾. 第54回日本応用動物昆虫学会, 2010年3月28日, 千葉大学(千葉県).

大喜裕二, 佐々木謙, 朝岡潔, カイコ幼虫のイノシトールによる咀嚼運動の修飾メカニズ

ム. 第54回日本応用動物昆虫学会, 2010年3月28日, 千葉大学(千葉県).

佐々木謙, 行動多型の転換や維持に関わる生体アミン. 第55回日本応用動物昆虫学会, 2010年3月29日, 九州大学(福岡県).

[図書] (計5件)

佐々木謙, NTS出版, 昆虫ミメティクス(下澤楯夫・針山孝彦 監修), 第2編・第4章・第15節, 2008, p549-555.

Sasaki K., NOVA Science Publishers, Insect Physiology: New Research (Ed.: R. P. Maes), Chapter 5, "Biogenic amines and division of reproduction in social insects", 2008, p185-209.

朝岡潔, 共立出版, 「動物の多様な生き方」 摂食: ハングリーではいられない(第2巻・第6章), 2009, p96-111.

佐々木謙, 共立出版, 「動物の多様な生き方」 変身: 生き残るためのモデルチェンジ(第2巻・第10章), 2009, p165-182.

Sasaki K., NOVA Science Publishers, "Regulation of reproductive states and control of sex of eggs by reproductive females in eusocial Hymenoptera" (Chapter 3) in "Social Insect: Structure, Function, Behavior" (Ed.) E. M. Stewart, 2011, in press (21pages).

[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

谷合 幹代子 (TANIAI KIYOKO)

研究者番号 : 60370665

(2) 研究分担者

佐々木 謙 (SASAKI KEN)

研究者番号 : 40387353

(3) 連携研究者

朝岡 潔 (ASAOKA KIYOSHI)

研究者番号 : 80391580