

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06071

研究課題名(和文) 水面直下にニッチをもつ昆虫の疎水性-親水性超微細リング構造の生理・生態学的解明

研究課題名(英文) Investigation of a hydrophobic-hydrophilic crown-like structure in aquatic insects under the water surface

研究代表者

高久 康春 (Takaku, Yasuharu)

東京農業大学・農学部・教授

研究者番号：60378700

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：生物体表を介した空気や水の界面とのバランスのとれた関係は生存のために不可欠であり、それぞれのニッチの中で進化上ほぼ最適化されている。水面上で生活しているアメンボは、疎水性の脚により水面に立ち素早く滑走することができる。水中生活をおくるゲンゴロウは親水性の体表構造や疎水性の物理的鰓をもち、その特性に注目した研究がなされている。しかし水面直下をニッチとする生物の研究は皆無であった。本研究では、水面直下にのみ生活域をもつ生物が、如何なるメカニズムにより水環境との関係を制御しているのかを、生きたまま電子顕微鏡観察できるNanoSuit法を中心とした形態解析、高速度撮影による運動解析法などから解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水面直下の生物に注目した研究は国内外ともに無かった。さらにNanoSuit法により、生きたまま生物試料を高分解能観察する技術は、これまでの観察結果を正確にするだけでなく、生命現象そのものについて新たな超微形態的知見を与えることは明白であり、注目昆虫および解析法の両者ともに学術的意義がある。また、本研究による新規知見は、生命科学全体に新たな視点を与え、農学・生物学・医学などの生命科学分野にこれまでにない新機構を提案するとともに、バイオミメティクス研究の推進にも貢献できる。

研究成果の概要(英文)：Various insects utilize hydrophobic biological surfaces to live on the water surface, while other organisms possess hydrophilic properties to live within the water column. Dixidae Larvae reside just below the water surface and never submerge. However, little is known about how the larvae live in such an ecological niche. In this study, we reveal their remarkable features and elucidate the mechanisms by the morphological analysis using the NanoSuit method, and the movement analysis using the high-speed photography. We find that a complex 'crown' structure on its abdomen consists of super-hydrophobic and super-hydrophilic structures. Our results demonstrate that the combination of these conflicting properties enables the larvae to position itself and to move just under the water surface: the hydrophobic region utilizes the water's surface tension to function as an 'adhesive disc', and the hydrophilic region behaves as a 'rudder' during locomotion.

研究分野：形態学

キーワード：電子顕微鏡 高真空 水性生物 NanoSuit

## 1. 研究開始当初の背景

昆虫の体表面物質や表面構造によって制御されている濡れ性の特性、およびその体表面における配置は、生物の生存のために重要な要因であり、生物の種それぞれで特殊化している。たとえば、水面上で生活しているアメンボは、疎水性の脚により水面に立ち、素早く水面を滑走することができる。また、水中生活をおくるゲンゴロウでは親水性の体表構造や疎水性の物理的鰓をもち、その特性に注目した研究がなされている。しかし、水面直下をニッチとする生物の研究は皆無であった。本研究では、水面直下にのみ生活域をもつ生物（マダラホソカの幼虫）に注視し、如何なるメカニズムにより水環境を制御しているか、その解明に取り組んだ。

## 2. 研究の目的

本研究では、生きた状態のまま電子顕微鏡で高分解能観察できる新技術（NanoSuit 法）を中心に据え、水面直下にのみ生活域をもつ生物が、そのニッチにおける生存戦略に注目し構造解明に基づく機能を明らかにする。また、これまでに報告のある水生昆虫や、未報告の水生昆虫を「疎水性-親水性の組み合わせ」という視点で情報を集積し、生物に共通する特性を探索し、サステイナブル工学応用新素材開発につなげる。

## 3. 研究の方法

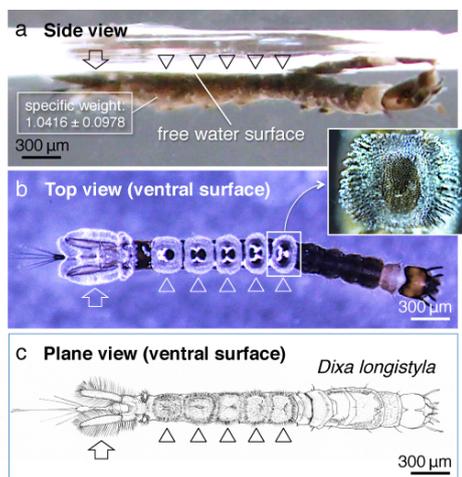
実験試料であるマダラホソカの幼虫（*Dixa longistyla* (Takahashi, 1958, Diptera: Dixidae)）は、国立博物館の近くの池（140°06'E, 36°06'N）、および佐鳴湖の横を流れる小川（137°41'E, 34°42'N）から採取した。アメンボ（*Aquarius paludum*, (Fabricius, 1794, Hemiptera: Gerridae)）とチビミズムシ（*Micronecta sedula* (Horváth, 1905, Hemiptera: Corixidae)）も、佐鳴湖・横の小川において採取した。

これらの試料を、光学顕微鏡（Ni-U, Nikon, Japan）と電解放出型走査電子顕微鏡（JEM-7100F, JEOL, Japan; S-4800, Hitachi, Japan）で観察した。電子顕微鏡観察には NanoSuit 法（Takaku et al, 2013）を適用した。行動解析には、高速度カメラ（HAS-220C, DITECT, Japan）を用いた。濡れ性の測定には、接触角計（Kyowa DMs-401, Kyowa, Japan; Kyowa MCA-3, Kyowa, Japan）を使用した。

## 4. 研究成果

(1) マダラホソカ幼虫の体表にみられる疎水性-親水性のリング状複合構造を解析すると、微細構造の形態的特性により異なる濡れ性が生じていること

図1. 水面直下に棲息するマダラホソカの幼虫：*Dixa longistyla* を(a)横からおよび(b)上から観察した光学顕微鏡像。尾部・腹側にある5つのリング状構造(矢頭)により、水面に下方から張り付くように浮いている。(c)にその模式図を示す。



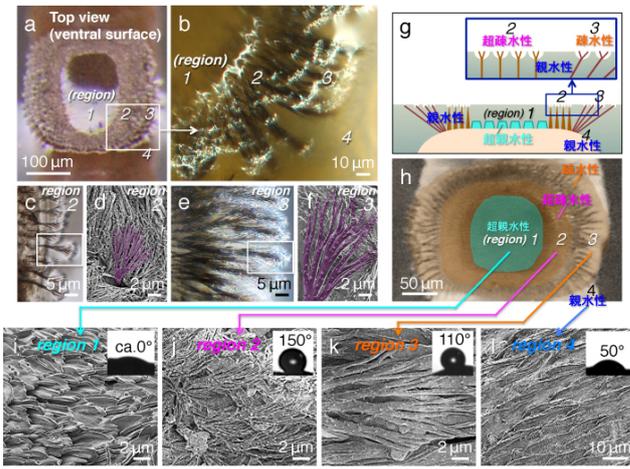


図 2. マダラホソカの幼虫の、尾部・腹側にある 5 つのリング状構造は、中心が超親水性、周囲は超疎水性の濡れ性を示す複雑な構造になっている。

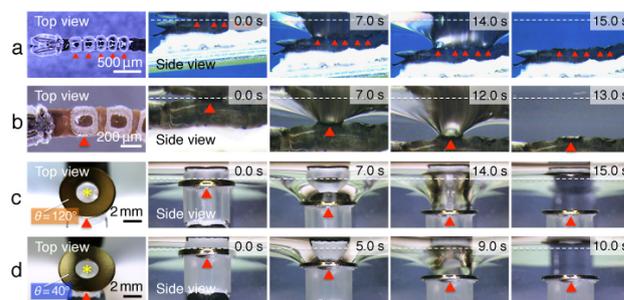


図 3. マダラホソカ幼虫の腹部にあるリング構造をバイオミメティクス展開して作成した人工基板。表面が疎水性の基板のほうが水面を深く引き下げる。

本研究では、形態分析の指標としてNanoSuit法による電子顕微鏡像を用いた。従来法で作成した試料と比較すると、NanoSuitでは含水状態の微細構造が観察された(図 2 i; 図 5 a-e)。

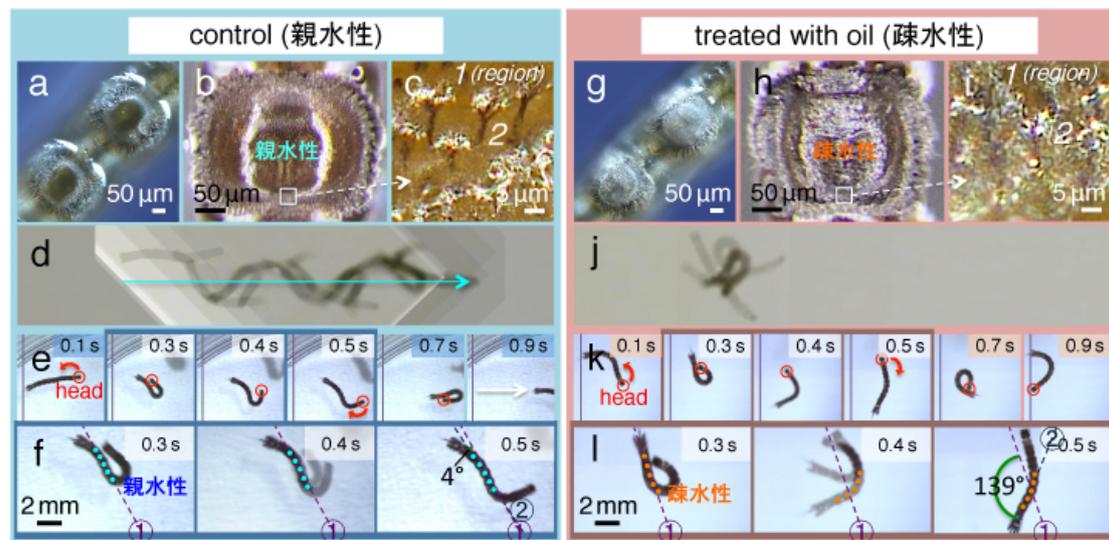


図 4. マダラホソカ幼虫の遊泳の様子。からだをくねらせて移動するが、腹部にあるリング状構造の親水性部位 (a-c) が起点となり遊泳の方向性を保つ (e, f)。親水性部位を疎水性に変えると (g-i)、からだ全体が回転し、通常の遊泳様式が阻害される (k, l)。

が分かった(図 1; 図 2)。この結果から、マダラホソカ幼虫は、空気と水の界面において、疎水性・親水性という物理特性を共利用していることが明らかになった。またリング状複合構造を規範とした人工基板を作成し接着特性を調べると、幼虫が水面に下方から張り付く力は非常に強いことが示唆された(図 3)。

(2) 一方、個体の遊泳運動を高速カメラ撮影により連続解析すると、複合構造が推進時の方向安定性に寄与していることが確認された(図 4)。この疎水性の部位を親水性に変化させると、水面直下からからだを保持できなくなった。これに対し、親水性の部位を疎水性に変化させると遊泳能が阻害された(図 4)。このような結果から、リング状複合構造では、疎水性の特性により水面に接着し、親水性の特性を利用して安定した線的遊泳を可能にしていることが示唆された(Suzuki and Takaku et al, 2021)。

(3) 疎水性と親水性をあわせもつという構造特性が、マダラホソカ幼虫以外の水生生物にもみられるか調べた。水面上（アメンボ）・水面直下（マダラホソカ幼虫）・水中（チビミズムシ）ごとに、それぞれの生息域の生物がどのような濡れ性を利用しているか確認した（Takaku et al, 論文投稿中）。これらの生物がもつ微細構造と水との連関を図6にまとめた。水面上のアメンボは、脚先にある疎水性の微細構造で水面を押し下げ、表面張力によって浮力を生んでいるが、水面直下のマダラホソカ幼虫は、疎水性の毛状構造がぶら下がるよう水面を押し下げ、表面張力によって浮力を生じている（両生物は、水面に対し「鏡面像」のような構図になる）。

さらに、アメンボでは脚先の親水性構造が、マダラホソカ幼虫では毛状構造の親水性部位が、それぞれ遊泳機能に寄与していることが明らかになった。一方、水中生活を送るチビミズムシでは、

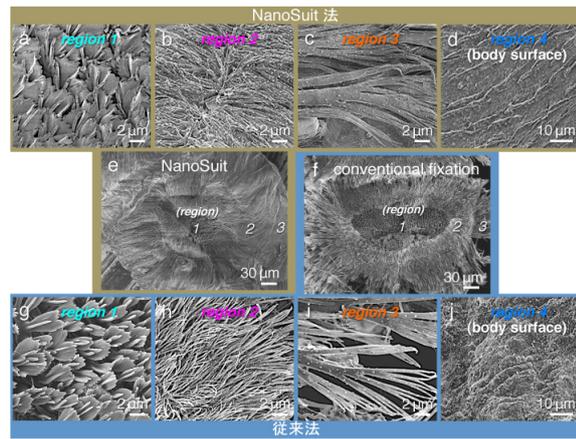


図5. マダラホソカの幼虫の、尾部・腹側にあるリング状構造の電子顕微鏡像。未固定のNanoSuit法(a-e)、および従来の化学固定・脱水・乾燥処理をおこなった試料作成法 (f-j)。

体表の毛状構造は疎水性特性のみを示し、これにより浮力を発生させていた。このような異なる濡れ性を巧みに利用することにより、水性生物は水環境に適応していることが示唆された。

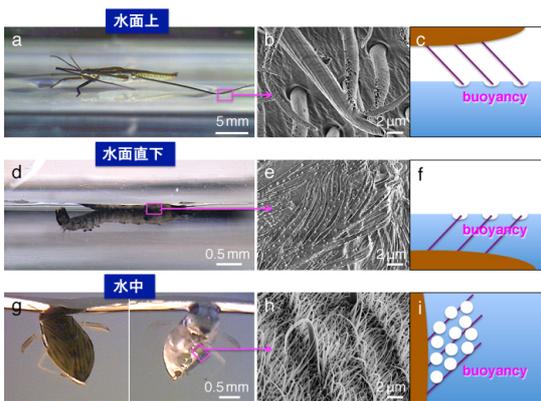


図6. 水面上・水面直下・水中に生息する生物が示す体表の毛状構造の利用例。アメンボ(a-c)、マダラホソカ幼虫(d-f)、チビミズムシ(g-i)。

<引用文献>

1. Takaku Y, Suzuki H, Ohta I, Ishii D, Muranaka Y, Shimomura M, Hariyama T (2013) A thin polymer membrane, nano-suit, enhancing survival across the continuum between air and high vacuum. Proc Natl Acad Sci USA, 110(19): 7631-7635.
2. Suzuki C, Takaku Y(共筆頭著者), Suzuki H, Ishii D, Shimozawa T, Nomura S, Shimomura M, Hariyama T (2021) Hydrophobic-hydrophilic crown-like structure enables aquatic insects to reside effectively beneath the water surface. Commun Biol, 4(1), 708, Published online (DOI: 10.1038/s42003-021-02228-5).

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Takaku Yasuharu, Shiraki Katsumi, Suzuki Chiaki, Takehara Sayuri, Nishii Hiroyuki, Sasaki Tomonori, Hariyama Takahiko	4. 巻 13(1)
2. 論文標題 Route of pesticide spread on the body surface of <i>Blattella germanica</i> (Linnaeus): a NanoSuit?energy dispersive X-ray spectroscopy analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-41474-x	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 Hariyama Takahiko, Takaku Yasuharu, Kawasaki Hideya, Shimomura Masatsugu, Senoh Chiyo, Yamahama Yumi, Hozumi Atsushi, Ito Satoru, Matsuda Naoto, Yamada Satoshi, Itoh Toshiya, Haseyama Miki, Ogawa Takahiro, Mori Naoki, So Shuhei, Mitsuno Hidefumi, Ohara Masahiro, Nomura Shuhei, Hirasaka Masao	4. 巻 71
2. 論文標題 Microscopy and biomimetics: the NanoSuit? method and image retrieval platform	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microscopy	6. 最初と最後の頁 1~12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jmicro/dfab042	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 Suzuki C, Takaku Y, Suzuki H, Ishii D, Shimozawa T, Nomura S, Shimomura M, Hariyama T	4. 巻 4(1)
2. 論文標題 Hydrophobic-hydrophilic crown-like structure enables aquatic insects to reside effectively beneath the water surface	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-02228-5	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 Mizutani H, Tagai K, Habe S, Takaku Y, Uebi T, Kimura T, Hariyama T, Ozaki M	4. 巻 12(9)
2. 論文標題 Antenna cleaning is essential for precise behavioral response to the alarm and nestmate-non-nestmate discrimination pheromones in Japanese carpenter ant ( <i>Camponotus japonicus</i> )	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Insects	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/insects12090773	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 Hariyama T, Takaku Y, Kawasaki H, Shimomura M, Senoh C, Yamahama Y, Hozumi A, Ito S, Matsuda N, Yamada S, Itoh T, Haseyama M, Ogawa T, Mori N, So S, Mitsuno H, Ohara M, Nomura S, Hirasaka M	4. 巻 71(1)
2. 論文標題 Microscopy and biomimetics: the NanoSuit; method and image retrieval platform	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microscopy	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jmicro/dfu042	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 Hariyama T, Takaku Y, Senoh C, Yamada S, Itoh T, Suzuki C, Takehara S, Hirakawa S, Kawasaki H	4. 巻 33(5)
2. 論文標題 Living organisms under an electron microscope: the NanoSuit method aiming for medical and industrial applications.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Photopolym Sci	6. 最初と最後の頁 517-522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2494/photopolymer.33.517	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 Takehara S, Takaku Y(共筆頭著者), Shimomura M, Hariyama T	4. 巻 15(5)
2. 論文標題 Imaging dataset of fresh hydrous plants obtained by field-emission scanning electron microscopy conducted using a protective NanoSuit.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0232992	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 Takaku Y, Takehara S, Suzuki C, Suzuki H, Shimomura M, Hariyama T	4. 巻 10(1)
2. 論文標題 In situ elemental analysis of living biological specimens using 'NanoSuit' and EDS methods in FE-SEM	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-71523-8	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 Suzuki C, Takaku Y(共筆頭著者), Suzuki H, Ishii D, Shimozawa T, Nomura S, Shimomura M, Hariyama T	4. 巻 In press
2. 論文標題 Hydrophobic-hydrophilic crown-like structure enables aquatic insects to reside effectively beneath the water surface	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Commun Biol	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

〔学会発表〕 計9件(うち招待講演 4件/うち国際学会 4件)

1. 発表者名 山口 泰生, 高久 康春
2. 発表標題 黒色を呈する昆虫の赤外線反射機能
3. 学会等名 日本昆虫学会第84回大会・第68回日本応用動物昆虫学会大会 合同大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Yasuharu Takaku
2. 発表標題 NanoSuit method for the observation of living/hydrous organisms in an SEM
3. 学会等名 Microscopy & Microanalysis, 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高久 康春, 白木 克実, 鈴木 千晶, 竹原 さゆり, 西井 博行, 佐々木 智基, 針山 孝彦
2. 発表標題 昆虫体表面における殺虫剤の広がり: NanoSuit-EDS法による解析
3. 学会等名 第71回高分子討論会(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 So S, Takaku Y, Ohta I, Tawara F, Hariyama T
2. 発表標題 Characterization of ultrastructural morphology of human sperms by field-emission scanning electron microscopy using the NanoSuit method
3. 学会等名 European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) 's 37th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takaku Y
2. 発表標題 NanoSuit method for the observation of living/wet organisms in an SEM
3. 学会等名 BioEM Talks 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takaku Y
2. 発表標題 NanoSuit method for the observation of living/wet organisms in an SEM
3. 学会等名 Microscopy & Microanalysis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宗 修平, 高久 康春, 太田 勲, 俵 史子, 針山 孝彦
2. 発表標題 NanoSuit法を用いたFE-SEMによる精子超微形態の特徴づけ
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会第40回学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宗 修平, 高久 康春(共筆頭著者), 太田 勲, 依 史子, 針山 孝彦
2. 発表標題 NanoSuit法を用いたFE-SEMによる精子超微形態観察法の確立
3. 学会等名 第38回日本受精着床学会総会・学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宗 修平, 依 史子, 高久 康春
2. 発表標題 NanoSuit法を用いたFE-SEMによる精子超微形態観察法の確立
3. 学会等名 第65回日本生殖医学会学術講演会・総会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 高久 康春, 針山 孝彦, 河崎 秀陽	4. 発行年 2021年
2. 出版社 株式会社シーエムシー出版	5. 総ページ数 367
3. 書名 バイオメティクス 持続可能な社会へ導く技術革新のヒント	

1. 著者名 針山 孝彦, 河崎 秀陽, 高久 康春	4. 発行年 2020年
2. 出版社 昆虫 (ニューシリーズ)	5. 総ページ数 11
3. 書名 電子顕微鏡で観る昆虫: NanoSuit法によるそのままの生物表面解析	

1. 著者名 高久 康春, 針山 孝彦, 河崎 秀陽	4. 発行年 2021年
2. 出版社 株式会社シーエムシー出版	5. 総ページ数 12
3. 書名 バイオメティクス 持続可能な社会へ導く技術革新のヒント	

〔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
研究 分担 者	針山 孝彦  (Hariyama Takahiko)  (30165039)	浜松医科大学・光先端医学教育研究センター・特命研究教授   (13802)	

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
---------	---------