

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440168

研究課題名(和文) 偏光定位行動と脳内神経活動の同時計測による昆虫の偏光知覚の神経機構の解明

研究課題名(英文) Behavioral and electrophysiological study of insect polarization vision by simultaneous recording of polarotactic behavior and brain neural activities.

研究代表者

佐倉 緑 (Sakura, Midori)

神戸大学・理学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：60421989

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：昆虫は天空の偏光パターンをナビゲーションに利用する。本研究では、ナビゲーション行動における偏光視の役割を明らかにするため、ミツバチを用いた行動学的および電気生理学的研究を行った。ミツバチは上方からの偏光刺激に対して特定のe-ベクトル方向に定位するが、その定位方向は個々の採餌経験に基づいて変化した。これは昆虫が移動中に偏光情報を利用して方向選択することを示している。また、脳の偏光視の中核である中心複合体から偏光感受性ニューロンの細胞外記録法を確立した。今後、飛行中のミツバチから神経応答を記録することにより、ナビゲーション行動中の偏光中枢の役割のさらなる解明を目指す。

研究成果の概要(英文)：Many insects use polarization pattern of the sky for orientation and navigation. Honeybees show clear polarotaxis to a certain e-vector orientation. In this study, polarotactic behavior of the bee trained to visit an artificial feeder was analyzed. The bees caught at the feeder oriented to the e-vector they experienced during their foraging flight, indicating that they utilized polarized light information from the sky to memorize the food location and to adjust their flight direction. In addition, an extracellular recording method from polarization-sensitive neurons in the bee brain was developed, which allows us to monitor neural responses of a flying tethered bee brain in a flight simulator.

研究分野：神経行動学

キーワード：ナビゲーション 太陽コンパス e-ベクトル

1. 研究開始当初の背景

昆虫は、その比較的少数のニューロンからなる神経系にも関わらず、非常に優れたナビゲーション能力を持つ。例えばサバクアリは、経路積算によって数キロ離れた餌場からでもランドマーク無しに直線的に帰巢する(図1)。経路積算を実現するためには、自らの動く方向と距離つまりベクトルをリアルタイムに把握しなければならない。一般に昆虫では、方向を天空の偏光パターン(図2)から、また距離をオプティックフローや歩数から検出すると考えられている。

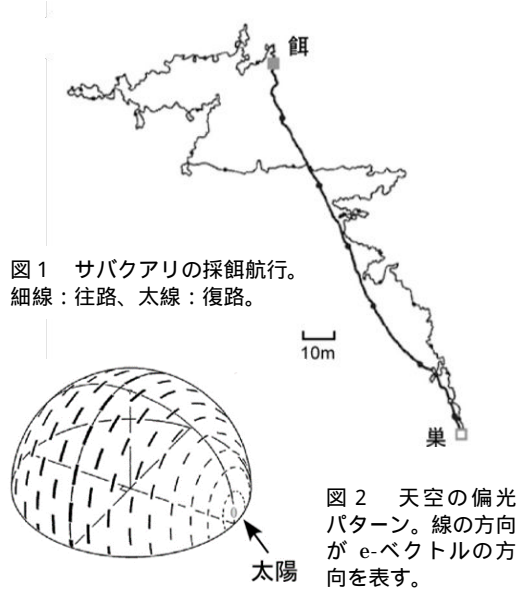


図1 サバクアリの採餌航行。
細線：往路、太線：復路。

図2 天空の偏光パターン。線の方向が e-ベクトルの方向を表す。
太陽

昆虫の方向検出に関わる偏光視についてはこれまでに、複眼の背側の領域(DRA)にある偏光を検出する視細胞や、視髄にある偏光感受性ニューロン(POLニューロン)について、電気生理学および形態学的に詳細な報告がなされてきた。また、申請者は近年、脳の高次中枢の一つである中心複合体において、様々なe-ベクトル方向にピークを持つ偏光感受性ニューロン群(コンパスニューロン群)を発見した(図3)。これらのニューロンはその反応特性から、体内コンパスのような働きをするものと考えられる。しかしながら、天空の偏光パターンの情報がコンパスニューロン群を含む神経回路網によってどの程度の精度で符号化され得るのか、またその符号化された情報によって動物の行動がどのように制御されるのかについては全く明らかとなっていない。

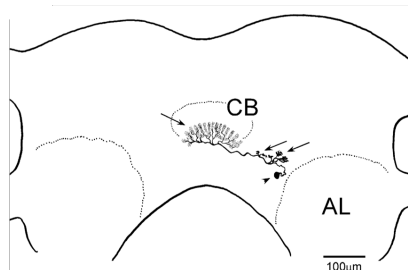


図3 コンパスニューロンの形態。

2. 研究の目的

上記の背景をふまえ本研究では、偏光刺激を用いた電気生理学および行動学的実験によって、偏光情報処理の中核機構を明らかにすることを目的とする。具体的には、ナビゲーション中の偏光刺激が行動に与える影響を調べるため、ミツバチの偏光定位行動(polarotaxis)を利用して、行動と神経活動の同時記録を試みる。

拘束ミツバチを用いて実験室内で飛行軌跡を観察できるようなフライトシミュレータを開発し、それにより仮想現実空間内での疑似採餌行動を発現させることを目指す。あまず、種々の偏光刺激に対する飛行の変化を解析することで、昆虫が実際のナビゲーション中に偏光に対してどのように応答するのかを明らかにする。次に、このフライトシミュレータ内で行動中のミツバチからコンパスニューロンや脳の下降性ニューロンの活動を細胞外記録できるような実験系を確立する。これにより、偏光刺激によって発現するナビゲーション行動とコンパスニューロンの応答または下降性ニューロンの応答、コンパスニューロンの応答と下降性ニューロンの応答との相関をそれぞれ調べることが可能となる。結果として、天空の偏光パターン検出に基づくナビゲーション行動の神経機構について入力から出力まで総合的に解析できると考えている。

3. 研究の方法

(1) フライトシミュレータを用いた拘束ミツバチの飛行行動解析

コンピューターモニタの上にミツバチを吊るすことで、飛行しているミツバチの下方から視覚刺激を与えるフライトシミュレータを構築する(図4)。モニタにはミツバチに飛行距離を知覚させるためのオプティックフローを提示し、上部には偏光板を配置して飛行方向を知覚させるための偏光刺激を提示する。また、ミツバチの長時間飛行を実現するため、ミツバチの前方からは風刺激を与えた。フライトシミュレータ内での疑似飛行中に偏光板を人為的に回転させ e-ベクトルの向きを変えた時の飛行行動を、ミツバチの側方と後方に配置した web カメラによって撮影した。撮影した画像を用いて、ミツバチ腹部の上下左右方向への動きを解析することでミツバチの飛行軌跡を推定し、e-ベクトル変化と飛行方向との相関関係を解析した。

また、採餌経験に基づく飛行方向の変化を確認するため、野外に設置したトンネルを用いて(図5) 巣箱から特定の方向に設置した人工餌場へのミツバチの採餌を訓練し、餌場を訪問した個体の飛行方向を上述のフライトシミュレータで解析した。

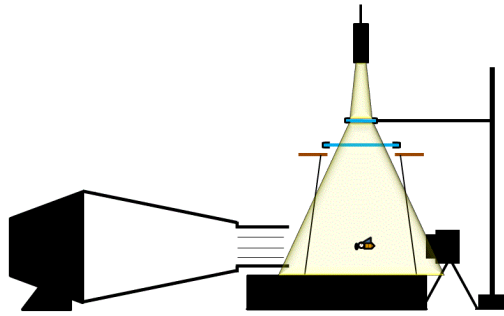


図4 フライトシミュレータの模式図。



図5 採餌訓練に用いたトンネル（牛原康博氏撮影）。

(2) 拘束ミツバチからの偏光感受性ニューロンに対する細胞外記録

飛行中のミツバチの脳内神経細胞からの記録を目指し、まずは固定したミツバチを用いて、中心複合体の偏光感受性ニューロンからの細胞外記録を行った。

チューブに固定したミツバチの脳内に直径 $17\mu\text{m}$ の被覆銅ワイヤ2本で作成した電極を刺入し、回転するe-ベクトルの偏光刺激を与えた時の神経応答の細胞外記録を行った。記録後、得られた多ユニット記録を単一の神経細胞の応答に分離し、個々の神経応答と偏光刺激のe-ベクトル変化との相関を解析した。また、記録後に電極から通電し、電極先端に銅イオンを析出させることで記録箇所の特定制を行った。

4. 研究成果

(1) フライトシミュレータを用いた拘束ミツバチの飛行行動解析

フライトシミュレータ内に拘束したミツバチは、飛行する際に上方からゆっくりと回転するe-ベクトルの偏光刺激を与えると、刺激の回転に追従して腹部先端の左右へのターンを繰り返す(図6)。このことから、飛行中のミツバチが天空の偏光パターンを利用して「偏光定位」によって自らの飛行方向を調節することが明らかとなった。また、腹部の上下方向のピッチ(図7)は下方から与えるオプティックフロー刺激が速くなるに従って大きくなることから、飛行距離の指標として利用できることが示唆された。

次に、人工餌場への採餌訓練を行ったミツ

バチを用いて、上述の偏光定位行動を解析した。餌場で採集した個体をフライトシミュレータでテストしたところ、ミツバチの定位方向は帰巢する際にトンネルから見える天空のe-ベクトル方向と一致することが明らかとなった(図8)。

特定のe-ベクトル方向に定位する偏光定位行動は、すでにいくつかの種の昆虫で知られており、昆虫の偏光視の指標として使われているが、今回、個体の採餌経験を制限した状態での定位行動を解析することにより、移動中のe-ベクトル情報の利用を直接的に明らかとすることが可能となった。これにより、彼らが移動中に偏光をリアルタイムで参照しつつ、自らの移動の方向を決定することが明らかとなった。今回の結果に基づき、フライトシミュレータ内での偏光刺激と砂糖水の報酬を組み合わせた疑似採餌飛行の実現を目指し、現在装置の改良および条件の検討を行っている。

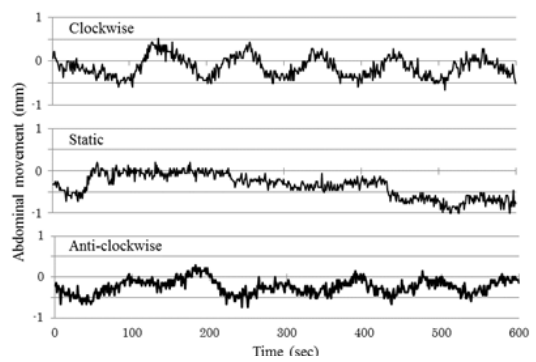


図6 回転する偏光刺激下での飛行方向の変化

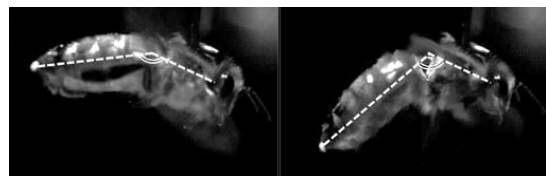


図7 オプティックフロー刺激の速度による腹部ピッチの変化(左:速い,右:遅い)。

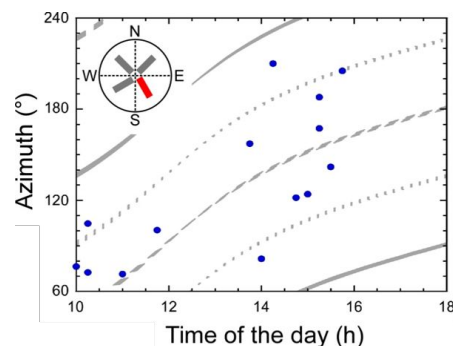


図8 採餌訓練をした個体の偏光定位方向から算出した定位方向(N = 14、赤:トンネル方向、青:定位方向、実線:太陽もしくは反太陽方位、長破線:天空のe-ベクトル方向)。

(2) 拘束ミツバチからの偏光感受性ニューロンに対する細胞外記録

チューブに固定したミツバチの脳の中心複合体領域に銅ワイヤ電極を刺入し、種々の白色光刺激に対する応答を記録した。中心複合体領域で記録された神経活動のうち光刺激に応答するユニットは、光のオンオフに応答するものや偏光刺激に応答するものなど、いくつかのカテゴリーに分類することができた。

偏光刺激に応答するユニットに対して、e-ベクトルが回転する偏光刺激を与えると、コンパスニューロンと同様な e-ベクトルの回転に同期した応答変動が確認されることから、これらのユニットは特定の e-ベクトル方向に指向性を持つ典型的な偏光感受性ニューロンからの記録であることが示唆された。細胞外記録であるため、細胞タイプの特定はできないが、これらのユニットが記録された部位はいずれも中心複合体の下部であったことから、コンパスニューロンからの記録も含まれていることが期待される。現在、これらのユニットの偏光刺激に対する応答特性を詳細に解析中である。

脳内の偏光感受性ニューロンに関するこれまでの電気生理学的研究は、細胞内記録によるものが主であるため、ナビゲーション行動と偏光視との関係を考察することが困難であった。今回、埋め込み電極による細胞外記録で偏光感受性ニューロンの応答が記録できることが明らかとなり、偏光視に基づくナビゲーション行動の神経基盤をより直接的に考察する基盤が整ったと言える。今後は、この記録法を用いて上述のフライトシミュレータ内で飛行中の個体から偏光感受性ニューロンの応答を記録することで、ナビゲーションの神経機構の解明を目指していく。

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4件)

佐倉 緑、昆虫の偏光視に基づくナビゲーション、昆虫と自然、査読無、Vol. 51、2016、pp. 42-46

佐倉 緑、昆虫の偏光コンパスの神経機構、比較生理生化学、査読有、Vol. 32、2015、pp. 195-204

Hojo MK, Ishii K, Sakura M, Yamaguchi K, Shigenobu S, Ozaki M, Antennal RNA-sequencing analysis reveals evolutionary aspects of chemosensory proteins in the carpenter ant *Camponotus japonicus*, Sci. Rep., 査読有、Vol. 5, 2015, 13541

DOI: 10.1038/srep.13541

Sakura M, Aonuma H, Aggressive behavior in the antennectomized male

cricket *Gryllus bimaculatus*, J. Exp. Biol., 査読有、Vol. 216, 2013, 2221-2228
DOI: 10.1242/jeb.079400

[学会発表](計16件)

佐倉 緑、岡田 龍二、フライトシミュレータを用いたミツバチの採餌行動の解析、第28回自律分散システム・シンポジウム、2016.1.21-2016.1.22、広島大学東広島キャンパス学生会館(広島県)

佐倉 緑、昆虫の偏光視に基づくナビゲーション機構の解明、第4回ネイチャー・インダストリー・アワード、2015.12.4、大阪科学技術センタービル(大阪府)

佐倉 緑、的場 なつみ、小林 宜弘、岡田 龍二、セイヨウミツバチの採餌経験に基づく偏光定位行動の解析、日本動物学会第86回新潟大会、2015.9.17-2015.9.19、朱鷺メッセ：新潟コンベンションセンター(新潟県)

原田 礼花、佐倉 緑、藍 浩之、菅原 道夫、岡田 龍二、ニホンミツバチとセイヨウミツバチにおけるキンリョウヘンの匂いに対する感覚応答と学習効果、日本動物学会第85回仙台大会、2014.9.11-2014.9.13、東北大学川内キャンパス(宮城県)

Sakura M, Kobayashi N, Okada R, Orientation to the polarized light in flying honeybees. The 11th International Congress of Neuroethology (2014ICN/JSCPB), 2014.7.28-2014.8.1, Sapporo Convention Center (Hokkaido, Japan)

Harada A, Ai H, Sugahara M, Okada R, Sakura M, Sensory responses to the oriental orchid odors in the Japanese and European honeybees, The 11th International Congress of Neuroethology (2014ICN/JSCPB), 2014.7.28-2014.8.1, Sapporo Convention Center (Hokkaido, Japan)

佐倉 緑、飛行中のミツバチの偏光定位行動、第3回ミツバチシンポジウム、2014.2.22、兵庫県立大学環境人間学部(兵庫県)

佐倉 緑、小林 宜弘、岡田 龍二、飛行中のミツバチの偏光定位行動、日本動物学会第84回岡山大会、2013.9.26-2013.9.28、岡山大学(岡山県)

Sakura M, Kobayashi N, Okada R, Orientation to the polarized light in flying honeybees, The 3rd International Conference of Invertebrate Vision, 2013.8.1-2013.8.8, Bäckaskog (Sweden)

他7件

[図書](計4件)

佐倉 緑、岡田 龍一、藍 浩之、共立出版、
パプロフのミツバチ：餌のにおいはど
れ？ ミツバチの吻伸張反応を用いた味
とにおいの連合学習実験 「研究者が教
える動物実験 第3巻(日本比較生理生
化学会編)」、2015、4 (178-181)

Sakura M, Watanabe S, Nova Science
Publisher, Olfactory oscillation and its
role for learning and discrimination of
odors in the terrestrial slug “Memory
consolidation (Eds. Ito E, Sakakibara
M)”, 2015, 10 (65-74)

Aonuma H, Sakura M, Kurabayashi D,
Nova Science Publisher, Memory
mediated by internal state: memory of
lost suppresses motivation of fight in
the cricket *Gryllus bimaculatus*
“Memory consolidation (Eds. Ito E,
Sakakibara M)”, 2015, 16 (37-52)

佐倉 緑、東京化学同人、太陽コンパス・
星座コンパス「行動生物学辞典」、2013、
2 (288, 332)

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐倉 緑 (SAKURA, Midori)

神戸大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：60421989

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

岡田 龍一 (OKADA, Ryuichi)

兵庫県立大学・環境人間学部・研究員

研究者番号：20423006