

ヤマトシロアリの女王の発達段階における核相倍加について

廣瀬奈々美¹, 野寄友成², 松浦健二^{2*}

¹大阪府立天王寺高等学校 (〒545-0005 大阪府大阪市阿倍野区三好町2丁目4番23号)

²京都大学大学院農学研究科 (〒606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町)

* kenjijpn@kais.kyoto-u.ac.jp

概要

《目的》バッタやカなどの昆虫では、卵生産時の雌個体の脂肪体で核 DNA の倍加が生じることが知られており、これは脂肪体で卵生産に必要な卵黄タンパクを大量生産する上で適応的だと考えられている。社会性昆虫の女王は卵の生産に特化したカーストであり、多くの卵を産む女王ほど脂肪体の核相倍加が進んでいるのだろうか。本研究では、ヤマトシロアリの女王の発達段階における脂肪体の核相倍加について調べた。

《方法》有翅虫（羽アリ）、一次女王（創設 3 か月のものと野外で採集したもの）、二次女王、の頭部と脂肪体の核相の倍加レベルを、フローサイトメーターを用いて測定した。

《結果》有翅虫と、若い（3 か月飼育したもの）一次女王の脂肪体に倍加の程度に差はないが、卵巣が大きく発達した一次女王（野外で採集したもの）と二次女王の脂肪体では核相の倍加レベルが高かった。

材料と方法

シロアリの採集 2015 年 5 月に京都府、兵庫県、大阪府のマツ林においてヤマトシロアリ *Reticulitermes speratus* の成熟コロニーを 3 つ採集した。どのコロニーも有翅虫（Alate）を含んでいた。それぞれのコロニーから雌有翅虫を 5 匹ずつランダムに選び、フローサイトメトリーに供した。同時にそれぞれのコロニーから同巣由来のペアをランダムに選び、圧縮形成したシロアリ飼育培地に営巣させることで、初期コロニーを形成させた。3 か月間飼育し、初期コロニーから雌有翅虫を取り出した。この個体は産卵を経験した young primary queen (young PQ) である。

2015 年 5 月～ 8 月に滋賀県、大阪府、和歌山県において、ヤマトシロアリ野外コロニーを採集し、そこから mature primary queens (mature PQ) と mature secondary queens (mature SQ) を得た。各種女王をフローサイトメトリーに供した。

序論

多くの動植物の代謝が活発な組織において、倍数性が上昇する核相倍加という現象が知られている。昆虫は、卵生産に際して卵黄タンパクを脂肪体で大量生産する。いくつかの昆虫では脂肪体の倍数性を上昇させ、卵黄タンパクの生産を加速させる事が知られている。

シロアリのような社会性昆虫では繁殖分業が高度に発達しており、女王が専ら卵生産を担い、その他の雌個体は繁殖以外のコロニーを維持するための労働に従事している。したがって脂肪体の核内倍加は産卵を担う女王においてのみ生じると予測される。実際に、シロアリの女王の脂肪体細胞は 4 倍体細胞から構成されていることが明らかになっている (Nozaki & Matsuura 2015)。

では、先行研究で発見された女王に特有の性質である脂肪体の倍数化は卵巣の発達とどのような関係にあるのだろうか？大きな女王の方が卵黄タンパクをより多く生産するので、脂肪体の倍数性も高くなることが予想される。

フローサイトメトリー 雌有翅虫 (Alate, n=15)、young primary queen (young PQ, n = 6)、mature primary queen (mature PQ, n = 2)、mature secondary queen (mature SQ, n = 20) をそれぞれ顕微鏡下で解剖し頭部と脂肪体を取り出した。フローサイトメトリーに用いた組織は Cycletest™ PLUS DNA Reagent Kit (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) を使用して調整した。サンプル調整は付属のプロトコルに従った。各組織はシリンジを用いてホモジナイズした。脂肪体と頭部組織は 250 µl の溶液 A (trypsin buffer) 中に回収し 25℃で 10 分静置し、その後 200 µl の溶液 B (trypsin inhibitors) を加えたあと 25℃で 10 分静置した。溶液を 50- µm のナイロンメッシュを通し、200 µl の溶液 C (PI; propidium iodide) を加え 4℃で 10 分間インキュベートした。染色した核の DNA と PI の結合により生じる蛍光を、励起波長 488nm で Becton Dickinson Accuri™ C6 Flow Cytometer によって解析した。それぞれのサンプルで約 1000 個の核に対し蛍光強度を測定した。ゲーティングは Accuri™ C6 software (ver. 1.0.264.21)

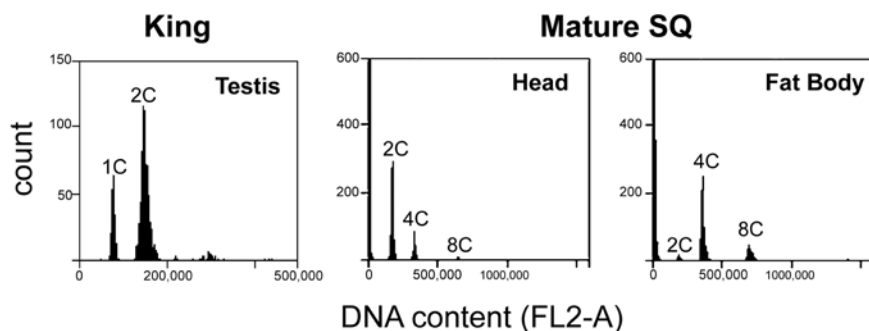


Fig.1. Representative histograms of nuclear DNA content by flow cytometry in the nuclei of king testis, and head and fat body of mature secondary queen (SQ).

で行い、サンプルごとに各倍数性レベル（2C, 4C, 8C など）の核の数を計測した。事前に雄有翅虫(King)の精巢の解析を行っており、1C の DNA 量の蛍光強度が明らかになっている (FL2-A = 80802.9) ので、これを基に各サンプルの 2C、4C、8C のヒストグラムを判定した (Fig. 1)。

統計解析

サイクルバリューはフローサイトメトリーによる解析から得られたそれぞれの倍数性レベルにある核の個数を計算して得られ、次式であらわされる。

$$\text{Cycle Value} = (0 \cdot n2C + 1 \cdot n4C + 2 \cdot n8C) / (n2C + n4C + n8C)$$

ここで n2C、n4C、n8C はそれぞれ C-values として 2C、4C、8C をもつ細胞の個数である。核内倍加の度合と雌繁殖個体のカテゴリ（雌有翅虫；Alate, 若い young primary queen; young PQ, mature primary queen; mature PQ, mature

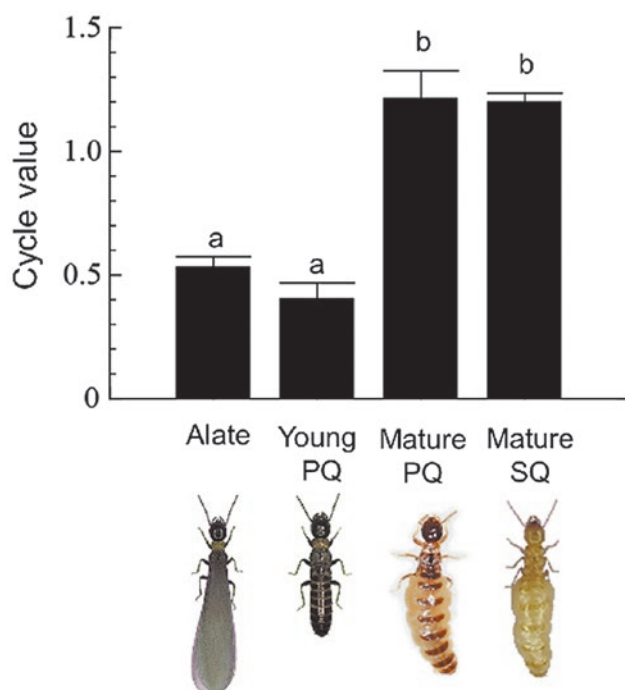


Fig.2. Comparison of cycle values of fat body cells among queen types (mean ±SE). Different letters indicate significant differences in cycle values (Tukey's HSD; $P < 0.05$).

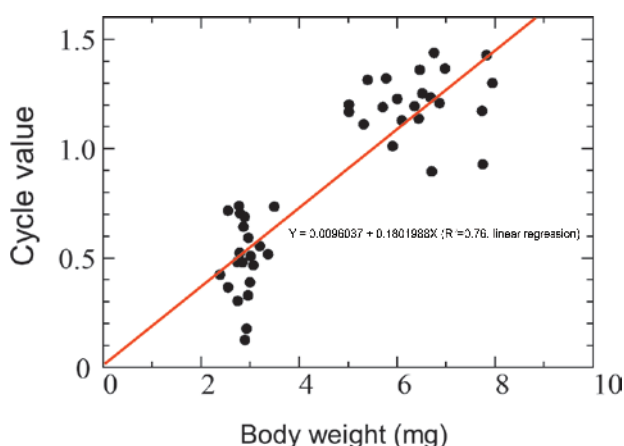


Fig.3. Relationship between queen size and cycle value of fat body cells.

secondary queen; mature SQ) の関係を明らかにするため、サイクルバリューを 1 配置の分散分析 (ANOVA) を用いて解析した。目的変数をサイクルバリュー、固定効果を雌繁殖個体のカテゴリと体部位とし、コロニーはランダム要因として組み込んだ。事後検定としてチューキーの範囲検定 (Tukey's HSD) を行った。全ての解析は R v3.1.2 によって行った。

結果

女王の脂肪体における倍数性は、体サイズによって変化していた。女王のカテゴリ間で、脂肪体のサイクルバリューに有意な差があった ($F_{3,39} = 73.55$, $P < 0.0001$, ANOVA, Fig.2)。また、女王の体重と脂肪体のサイクルバリューには有意な相関関係が認められた ($t = 11.44$, $P < 0.0001$, Fig.3)。

考察

有翅虫と若い創設 3 カ月の一次女王は倍加のレベルが低く、その差は確認されなかったため、倍加のレベルに羽化は影響しないことが考えられる。

また、女王の体重と比例するサイクルバリューの増加は、女王の発達過程（ネオテニックやアダルトイドなど）には関係性がないと思われる。

これらの結果からヤマトシロアリの女王は、脂肪体を倍加させることで卵黄タンパク質の生産を促進し、卵生産を加速させていることがわかった。より比較的な器官やカーストにおける核相倍加の研究には、核相倍加がタスク配分に合わせて調整されているかを確定する必要がある。

感想

今回の実験を通して、知識的にも精神的にも多くのことを学べた。普段全く関わりのなかった研究室の中に入らせていただき、その研究に少し触れさせてもらっただけで、今後の自分の方向性や、シロアリの興味深さを深く感じ、より一層研究者への憧れが強くなった。同時に、まだまだ自分の未熟な部分を痛感したため、明確な目標ができた分、より一層頑張っていきたいと思う。また系統は随分変わってしまうが、自分が特に興味のある水棲昆虫ではこのような現象はおきていないのか、このような倍加の仕組みはどのようにして確立されたのか、など浅いが、自分なりに興味のある事柄についてもっと実験を続けていきたいと思う。

今後の疑問

1. 何故倍加レベルは 4C の頻度が高いのか？どのようにして倍加を制御しているのか。
2. 女王の核相倍加には季節性があるのか。
3. ヤマトシロアリ以外の、より大きな女王が存在する高等シロアリ種ではどうであるか。

引用文献

Nozaki, T. & K. Matsuura. Termite queens have disproportionately more DNA in their fat body cells: reproductive division of labor and endoreduplication. *Entomological Science* 19: 67–71. (2015).