Reio / issociated Reposit	ory or Academic resources					
Title	緩歩動物クマムシにおける雌が雄を誘引するフェロモンの単離と構造解析					
Sub Title	Isolation and structural analysis of the male-inducing pheromone in Tardigrada female					
Author	松本, 緑(Matsumoto, Midori)					
Publisher	慶應義塾大学					
Publication year	2019					
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.)					
JaLC DOI						
Abstract	クマムシでは乾燥などの厳しい環境においても活動を停止するクリプトビオシスにより「個体」を維持することで有名であるが、「種」を維持するための生殖現象では、単為生殖と有性生殖を行うものが存在するが、「種」の多様性を生み出す有性生殖を行う種の知見かない。さらに、有性生殖クマムシの交尾行動についてもその前段階である求愛行動についても報告は全くない。クマムシはゲノムサイズが小さいためゲノム、トランスクリプトーム解析といった分子生物学的アプローチによる研究が盛んに行われ、遺伝情報の利用が可能になっている。また、私たちのグループではWhole mount in situ hybridization法、RNAi法も開発しており、今後の遺伝子解析研究への利用が期待できる。また、自由放卵型で有性生殖を行うParamacrobiotus sp. TYO系統およびMacrobiotus shounaicusにおいて、雌雄の識別法を確立した。Paramacrobiotus sp. TYO系を用いてこの方法による雌雄を判別し、成熟した雌に対する雄の求愛行動の観察により、雌から雄を誘引する性フェロモンが分泌されている可能性を示した。雌飼育液をSepPakC18を用いて、水、30%、70%、100%MeOHにて分画した。これらの画分に対して雌が雄を誘引する能力を動画解析を用いて首振り回数と歩行速度を測定することにより「顕音能」および、目的物質を動画解析を用いて首振り回数と歩行速度を測定することにより「誘引能」を計測した。これらの観察により、それぞれ異なる画分に活性が見られた。Reproductive strategy is important for the expansion of biological diversity. In tardigrades, several reproductive modes are known as parthenogenesis, sexual reproduction with male and female, and hermaphrodite. However, their behaviors on sexual reproduction have remained not observed. Recently, we investigated and compared their courtship, mating, and chromosomal behaviors with two sexually reproducing tardigrade species that lay eggs freely, Paramacrobiotus sp. TYO strain and Macrobiotus shonaicus. The courtship behaviors of these tardigrades, was observed and can be categorized into six steps as tracking, touching, entering, preparing, ejaculation, and squeezing. In the tracking step, a male chased to a female. This observation showed that the female secreted the sexual pheromones which induce males. We fractionated female breeding liquid with SepPakC18 by water, 30%, 70%, 100% MeOH. We measured two activity for tracking as "male-inducing activity" and "male-excitement activity". For "male-inducing activity", we counted the number of male which gather to the agar which include female-breeding water. And, for "male-inducing activity", in the female-breeding water by video analysis, we counted the frequency of neck swing, and measured the walking speed of males.					
Notes	<u> </u>					
Genre	Research Paper					
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180083					

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって 保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# 2018 年度 学事振興資金 (個人研究) 研究成果実績報告書

研究代表者	所属	理工学部	職名	准教授	補助額	300	(A)	千円
	氏名	松本 緑	氏名(英語)	Midori Matsumoto		300	(A)	

#### 研究課題 (日本語)

緩歩動物クマムシにおける雌が雄を誘引するフェロモンの単離と構造解析

### 研究課題 (英訳)

Isolation and structural analysis of the male-inducing pheromone in Tardigrada female

## 1. 研究成果実績の概要

クマムシでは乾燥などの厳しい環境においても活動を停止するクリプトビオシスにより「個体」を維持することで有名であるが、「種」を維持するための生殖現象では、単為生殖と有性生殖を行うものが存在するが、「種」の多様性を生み出す有性生殖を行う種の知見は少ない。さらに、有性生殖クマムシの交尾行動についてもその前段階である求愛行動についても報告は全くない。クマムシはゲノムサイズが小さいためゲノム、トランスクリプトーム解析といった分子生物学的アプローチによる研究が盛んに行われ、遺伝情報の利用が可能になっている。また、私たちのグループでは Whole mount in situ hybridization 法、RNAi 法も開発しており、今後の遺伝子解析研究への利用が期待できる。また、自由放卵型で有性生殖を行う Paramacrobiotus sp. TYO 系統および Macrobiotus shounaicus において、雌雄の識別法を確立した。Paramacrobiotus sp. TYO 系を用いてこの方法による雌雄を判別し、成熟した雌に対する雄の求愛行動の観察により、雌から雄を誘引する性フェロモンが分泌されている可能性を示した。雌飼育液を SepPakC18 を用いて、水、30%、70%、100%MeOH にて分画した。これらの画分に対して雌が雄を誘引する能力を動画解析を用いて首振り回数と歩行速度を測定することにより「興奮能」および、目的物質を寒天内封じ込めたものと共存させて寒天への到達率を測定することにより「誘引能」を計測した。これらの観察により、それぞれ異なる画分に活性が見られた。

### 2. 研究成果実績の概要(英訳)

Reproductive strategy is important for the expansion of biological diversity. In tardigrades, several reproductive modes are known as parthenogenesis, sexual reproduction with male and female, and hermaphrodite. However, their behaviors on sexual reproduction have remained not observed. Recently, we investigated and compared their courtship, mating, and chromosomal behaviors with two sexually reproducing tardigrade species that lay eggs freely, Paramacrobiotus sp. TYO strain and Macrobiotus shonaicus.

The courtship behaviors of these tardigrades, was observed and can be categorized into six steps as tracking, touching, entering, preparing, ejaculation, and squeezing.

In the tracking step, a male chased to a female. This observation showed that the female secreted the sexual pheromones which induce males. We fractionated female breeding liquid with SepPakC18 by water, 30%, 70%, 100% MeOH. We measured two activity for tracking as "male-inducing activity" and "male-excitement activity". For "male-inducing activity", we counted the number of male which gather to the agar which include female-breeding water. And, for "male-excitement activity", in the female-breeding water by video analysis, we counted the frequency of neck swing, and measured the walking speed of males.

#### 3. 本研究課題に関する発表 発表者氏名 学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月) 発表課題名 発表学術誌名 (著者・講演者) (著書名・演題) (著書発行所・講演学会) 2019年2月 Kenta Sugiura, Hiroki Minato, Comparison of sexual reproductive Zoological Science Atsushi C. Suzuki, Kazuharu behavior in two species of Arakawa, Takekazu Kunieda, Macrobiotidae (Tardigrada: Midori Matsumoto Eutardigrada) Kenta Sugiura, Hiroki Minato, Comparison of sexual reproductive International on 2018 年 7 月 Symposium Atsushi C. Suzuki, Kazuharu behaviors in two species of Tardigrada Arakawa, Takekazu Kunieda, Macrobiotidae Midori Matsumoto 渡辺絵莉、杉浦健太、松本 有性生殖を行うクマムシの性フェロー日本動物学会大会 2018年9月 モンに対する行動分析 クマムシの性フェロモンの単離と行「日本動物学会関東支部大会 渡辺 絵莉、杉浦 健太、神保 2019年3月 充、松本 緑 動分析