

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決定
Sub Title	A study of sex pheromones and behavioral analyses of tardigrades
Author	松本, 緑(Matsumoto, Midori)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2020
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2019.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>私達は有性生殖を行うクマムシParamacrobrotus sp. TYO系統の交尾行動を初めて記載し、オスはメスに対して、首を振りながら追いかけて射精に至ることを示している。さらに1匹のメスに何匹ものオスが群がる様子も確認されることから、オスを誘引または興奮させるフェロモンの存在が示唆されている。本研究では、クマムシのオス誘引フェロモンの単離と同定を目指した。</p> <p>雌雄共存時のオスの行動観察から、フェロモンの活性を誘引活性と興奮活性の2つを想定した。メス飼育液中にオス誘引活性があるかを確認するために、メス10匹を一晩飼育して得たメス飼育液を用いて寒天小片を作成し、これに対するオスの行動を観察した。オス飼育液を用いて作製した寒天小片の誘引率は20%以下だったのに対し、メス飼育液を用いて作製した寒天小片の誘引率は70%であった。よって、メス飼育液にはオスを誘引するフェロモン物質が存在することが示された。さらにメス飼育液にオス興奮活性があるかを確認するために、個体追跡ソフトUMA-Trackerなどを用いて歩行速度、首振り回数などを計測した。メス飼育液中でのオスの歩行速度は、オス飼育液中での歩行速度に比べて有意に速かった。さらに、オス飼育液中ではほとんど首を振らずに歩くのに対して、メス飼育液ではしきりに方向転換する様子が観察され、首振りの回数も上昇した。これらのことから、歩行速度を速め、首振りを誘発するオス特異的な興奮フェロモンの存在が示された。</p> <p>両者の活性成分を分画するために、メス飼育液をSep-Pakにより溶出した画分の誘引活性と興奮活性を測定した。オス誘引率は、素通り画分と20%メタノール抽出液で強い誘引活性が見られ、一方、個体追跡による興奮活性は、80%メタノール抽出液に強い活性が見られた。以上の結果から、両者は異なる化合物に由来することが明らかになった。</p> <p>Previously it was reported the mating behavior of tardigrade Paramacrobrotus sp. TYO strain, and showed that males chased females while shaking their heads until ejaculation. In addition, we observed that several males approached to single female, suggested secretion of male-attracting pheromones from the female. Therefore, we aimed to isolate and identify the pheromones of the tardigrades.</p> <p>Ten TYO females were reared overnight to obtain female culture water. Using agar pieces containing the culture water, attractive rates of males were measured. To confirm character of the female culture water, the solution was eluted by H₂O, 20%,40%,60%, and 80% methanol with Sep-Pak® C18. Then by using agar pieces containing the eluted fractions, the male attractive rates were measured. The rate of attracted males to agar pieces without female culture water was less than 20%, whereas 70% of males were attracted to agar pieces containing the female culture water. Therefore, existing of the male-attracting pheromone in the female culture water was indicated. Then, by using the agar piece containing the fractions eluted by Sep-Pak® C18, strong attracting activities were observed in the pass-through fraction and the 20% methanol extract. Thus, the male-attracting pheromone should be a substance with high polarity.</p> <p>Next, walking speed of the males were measured, and number of head-swings were counted with a tracking software UMA-Tracker. By tracking analyses, the male walking speed in the female culture water was significantly faster than normal water, moreover, the males shook their head widely and frequently. These results suggested that a presence of male-exciting pheromone that induces the head-shaking. And by individual tracking analyses with the Sep-Pak® C18 eluted fractions, the strong exciting activities were observed in the 80% methanol extracts. Therefore, it is considered that a male-exciting pheromone was a highly hydrophobic molecule.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2019000007-20190069

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.

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		
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決定						
研究課題 (英訳)						
A study of sex pheromones and behavioral analyses of tardigrades						
1. 研究成果実績の概要						
<p>私達は有性生殖を行うクマムシ <i>Paramacrobiotus</i> sp. TYO 系統の交尾行動を初めて記載し、オスはメスに対して、首を振りながら追いかけて射精に至ることを示している。さらに1匹のメスに何匹ものオスが群がる様子も確認されることから、オスを誘引または興奮させるフェロモンの存在が示唆されている。本研究では、クマムシのオス誘引フェロモンの単離と同定を目指した。</p> <p>雌雄共存時のオスの行動観察から、フェロモンの活性を誘引活性と興奮活性の2つを想定した。メス飼育液中にオス誘引活性があるかを確認するために、メス10匹を一晩飼育して得たメス飼育液を用いて寒天小片を作成し、これに対するオスの行動を観察した。オス飼育液を用いて作製した寒天小片の誘引率は20%以下だったのに対し、メス飼育液を用いて作製した寒天小片の誘引率は70%であった。よって、メス飼育液にはオスを誘引するフェロモン物質が存在することが示された。さらにメス飼育液にオス興奮活性があるかを確認するために、個体追跡ソフト UMA-Tracker などを用いて歩行速度、首振り回数などを計測した。メス飼育液中でのオスの歩行速度は、オス飼育液中での歩行速度に比べて有意に速かった。さらに、オス飼育液中ではほとんど首を振らずに歩くのに対して、メス飼育液ではしきりに方向転換する様子が観察され、首振りの回数も上昇した。これらのことから、歩行速度を速め、首振りを誘発するオス特異的な興奮フェロモンの存在が示された。</p> <p>両者の活性成分を分画するために、メス飼育液を Sep-Pak により溶出した画分の誘引活性と興奮活性を測定した。オス誘引率は、素通り画分と20%メタノール抽出液で強い誘引活性が見られ、一方、個体追跡による興奮活性は、80%メタノール抽出液に強い活性が見られた。以上の結果から、両者は異なる化合物に由来することが明らかになった。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>Previously it was reported the mating behavior of tardigrade <i>Paramacrobiotus</i> sp. TYO strain, and showed that males chased females while shaking their heads until ejaculation. In addition, we observed that several males approached to single female, suggested secretion of male-attracting pheromones from the female. Therefore, we aimed to isolate and identify the pheromones of the tardigrades.</p> <p>Ten TYO females were reared overnight to obtain female culture water. Using agar pieces containing the culture water, attractive rates of males were measured. To confirm character of the female culture water, the solution was eluted by H₂O, 20%,40%,60%, and 80% methanol with Sep-Pak® C18. Then by using agar pieces containing the eluted fractions, the male attractive rates were measured. The rate of attracted males to agar pieces without female culture water was less than 20%, whereas 70% of males were attracted to agar pieces containing the female culture water. Therefore, existing of the male-attracting pheromone in the female culture water was indicated. Then, by using the agar piece containing the fractions eluted by Sep-Pak® C18, strong attracting activities were observed in the pass-through fraction and the 20% methanol extract. Thus, the male-attracting pheromone should be a substance with high polarity.</p> <p>Next, walking speed of the males were measured, and number of head-swings were counted with a tracking software UMA-Tracker. By tracking analyses, the male walking speed in the female culture water was significantly faster than normal water, moreover, the males shook their head widely and frequently. These results suggested that a presence of male-exciting pheromone that induces the head-shaking. And by individual tracking analyses with the Sep-Pak® C18 eluted fractions, the strong exciting activities were observed in the 80% methanol extracts. Therefore, it is considered that a male-exciting pheromone was a highly hydrophobic molecule.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
渡辺 絵莉、杉浦 健太、神保 充、松本 緑	クマムシの性フェロモンの単離と行動解析	新規素材探索研究会	2019年6月7日			
渡辺 絵莉、杉浦 健太、神保 充、松本 緑	メスのクマムシはオス誘引物質と興奮物質を分泌する	日本動物学会第90回大会	2019年9月13日			