

昆虫におけるメスの精子貯蔵器官の機能に関わる分子

後藤彩子

甲南大学大学院 自然科学研究科

甲南大学 統合ニューロバイオロジー研究所

緒言

メスがオスと交尾してから受精までのある程度の期間、体内に精子を貯蔵するシステムは、魚類、は虫類、鳥類、哺乳類など脊椎動物のごく一部の種や昆虫の大部分の種という広い分類群で見られる (Orr and Zuk, 2012)。このシステムは、交尾から産卵・出産までの間に時間差があるため、適した環境 (季節や場所) になってから産卵・出産できるという利点が挙げられる。その他には、メスが複数のオスと交尾した後で、受精に使用する精子を選択的に使用できるという、交尾後のメスによる隠れた選り好み (cryptic female choice) が生じていることも報告され、性選択におけるメスの利点という観点からも注目されている (Simmons, 2001)。また、昆虫の場合は、短期間で大量に産卵する際に、事前に精子を大量に貯蔵しておくことで、効率的に受精させることができる利点もあると考えられる。

昆虫類のほとんどの種のメスは、受精囊 (spermatheca) とよばれる袋状の器官を発達させ、そこに精子を貯蔵している。受精囊は、膣 (vagina) や交尾囊 (bursa copulatrix) とよばれる膣の一部の背中側に開口した外胚葉由来の器官である (Matsuda, 1976; Snodgrass, 1993)。卵巣で作られた卵が産下され、総輸卵管 (common oviduct) へ移動するまでの間に、受精囊から排出された精子が卵と受精し、産卵される。受精囊を構成する構造の一つであるリザーバー (reservoir) は袋状で、この内部に精子が貯蔵される。リザーバーはクチクラに裏打ちされた上皮細胞層で成り立っており、上皮細胞自体に分泌機能がある種と、リザーバー自身には分泌機能はなく、その機能は受精囊腺 (spermathecal gland) という独立した組織が担っている種の二つのタイプに分けられる。これらと膣や交尾囊をつなぐ受精囊管 (spermathecal duct) を合わせて受精囊と一般的に呼ばれている。多くの昆虫でリザーバーの数はひとつであるが、中には複数個持つ種もあり、例えば、双翅目昆虫では1~4個、ハサミムシの一種では10個も保持している (Simmons, 2001)。また、形態も球状のものや管状、傘状など多様で、さらに受精囊管の長さや形態も種によって様々である (Matsuda, 1976; Simmons, 2001; Costa-Leonard and Patricio, 2005)。このように、多様性に富んでいる受精囊の形態は、精子の生存維持や精子競争、性的対立などの繁殖戦略と密接な関係があると考えられており (Kamimura, 2000; Simmons, 2001; Hayashi and Tsuchiya, 2005)、昆虫の生活史の多様性の進化を理解する上で重要である。

これまでに、受精囊の形態学的な観察や繁殖生態から、受精囊の機能が推定されてきたが、どのような分子が受精囊の機能を担っているかは長年不明であった。しかし、近年の技術の発展により、まだごく一部の種においてではあるが、受精囊の機能に関わると予想される分子が特定され始めた。本総説ではそれらの研究についての解説を行い、今後の方向性について述べたい。

1. 双翅目

1-1. キイロショウジョウバエ

キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) は遺伝学におけるモデル生物として広く扱われている。本種のメスの内部生殖器には2つの球状の受精囊 (spermatheca) の他に、seminal receptacle とよばれる管状の精子貯蔵器官が1つある (Fig. 1)。seminal receptacle には精子の 65-80%が貯蔵される一方で、受精囊にはその残りの精子が貯蔵され、seminal receptacle に貯蔵されている精子よりも長期間維持される (Prokupek et al., 2008)。

キイロショウジョウバエの受精囊を構成している上皮細胞は分泌細胞 (Fig. 1, SSCs) に覆われており、これが受精囊腺として機能し、分泌物は管構造を經由して受精囊内に分泌されていると考えられている (Sun and Spradling, 2012)。この分泌細胞の存在は交尾時に精子が受精囊まで到達すること、受精囊内に貯蔵された精子を動かしておくことに必要である (Schnakenberg et al., 2011)。脊椎動物の核ホルモン受容体 *Sfl* と類似した機能をもつ *Hr39* 遺伝子は、受精囊腺の発生に必要であると同時に、成虫期では受精囊腺の分泌物の合成に寄与している (Allen and Spradling 2008; Sun and Spradling 2012)。

発生段階から受精囊原基で発現している転写因子である *lozenge* は、成虫では受精囊管での発現がみられる (Anderson, 1945; Sun and Spradling, 2012)。そのため、なんらかの重要な機能があると考えられるが、具体的な機能は不明である。

これまでに、受精囊とそれ以外の体の部位を比較すると、セリンプロテアーゼ遺伝子群の発現が高いことが複数の論文で報告されている (Allen and Spradling, 2008; Prokupek et al., 2008)。動物では、セリンプロテアーゼは精子の生理学的な機能に関わっている (Cesari et al., 2010)。昆虫のオスでは、精液中のセリンプロテアーゼが精子運動と精子成熟の引き金となることが知られている (Osanai et al., 1989; Friedländer et al., 2001; Miyata et al., 2012; Nagaoka et al., 2012)。また、キイロショウジョウバエとその近縁種間で、受精囊で発現するセリンプロテアーゼ遺伝子群のアミノ酸の置換速度が他の遺伝子群と比較して速かったことから、本種のメスは複数のオスと交尾するため、貯蔵精子に対するメスの選り好みや精子競争の結果、これらの遺伝子に正の自然選択が生じていることが示唆されている (Prokupek et al., 2008)。こ

これらの研究は、セリンプロテアーゼがメスの受精囊において精子に対する何らかの重要な役割を果たしていることを示している。

メスの生理状態や行動は、交尾により精液や精子がメス体内に入ることによって劇的に変化することが知られている (Simmons, 2001; Ravi Ram and Wolfner, 2007; Avila et al., 2011)。キイロショウジョウバエでは、受精囊と **seminal receptacle** それぞれで交尾前と比較して、免疫応答やホルモン制御などさまざまな生命現象に参与する *P450* 遺伝子の発現が上昇していることが明らかにされた (Prokupek et al., 2009)。さらに、受精囊と **seminal receptacle** を含めた組織では、交尾後に抗菌タンパク遺伝子の発現上昇が見られている (Mack et al., 2006)。この特徴は、同じ双翅目に属するネッタイシマカ (*Aedes aegypti*) でも報告されている (Alfonso-Parra et al., 2016)。交尾によって、メスはオスから精液以外にも病原菌をもたらされるため、これらの遺伝子の発現上昇はその防衛に関わっていると考えられている。

以上のように、キイロショウジョウバエでは、受精囊で発現するさまざまな分子が特定されているものの、それらが実際に精子の生存や精子競争にどのように影響しているかの具体的な研究はない。キイロショウジョウバエの精子貯蔵器官は小さく、外科的な操作をする実験は困難であるが、今後、遺伝学的な手法を用いた受精囊発現遺伝子の機能の解析が進むことが期待できる。

2. 膜翅目

2-1. 社会性ハチ類の繁殖生態

膜翅目 (Hymenoptera) は約 13 万種を含む大きなグループであり、その中で有剣類に属するアリ科、スズメバチ科、ミツバチ科、コハナバチ科とコシブトハナバチ科で、真社会性がそれぞれ独立に進化した (Wilson, 1971)。社会性をもつ膜翅目の種を社会性ハチ類と呼ぶ。

社会性ハチ類のメスは羽化後すぐの限られた時期にしか交尾をしないため、交尾から死亡するまでの期間、コロニーを形成するために十分な精子をこの時にすべて貯蔵し、産卵時に必要な数の精子のみを取り出し受精させている。このような生活史を持つため、社会性ハチ類では、寿命が精子貯蔵期間とほぼ同じであると言える。ミツバチやアリでは数年から数十年もの長い寿命をもつため (Dade, 1977; Keller, 1998)、他の昆虫と比較して精子貯蔵期間が極めて長いことから、これらの昆虫の受精囊の機能を明らかにすることで長期間の精子貯蔵メカニズムの解明が可能となると期待できる。

2-2. セイヨウミツバチ

セイヨウミツバチ (*Apis mellifera*) は古くから家畜として扱われており、品種改良のための育種や人工授精技術などの研究のみならず、社会行動やその遺伝的基盤などの

研究も進められてきた。そのため、社会性昆虫のモデル生物として 2006 年という早い段階で全ゲノム解読が行われている (Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006)。

セイヨウミツバチの女王の体長は約 2cm であり、直径約 1mm の球状の受精囊の中に数百万の精子を蓄え (Cobey, 2007)、2~5 年の寿命の間に使用している (Dade, 1977)。本種の女王は精子貯蔵期間が長いことに加え、一度に 10 個体以上のオスと交尾をすることから、受精囊の機能として長期間の精子貯蔵への寄与の他に、精子競争の観点からも考察が行なわれている。

セイヨウミツバチの受精囊は、他の膜翅目のメスと同様に、クチクラで裏打ちされた単層の上皮細胞で構成されているリザーバー、一对の受精囊腺と受精囊管から成る (Poole, 1970; Dallai, 1975; Wheeler and Kruttsch, 1994; Pabalan et al., 1996; Schoeters and Billen, 2000; Martins and Serrão, 2002; Martins et al., 2005; Gobin et al., 2006; Gotoh et al., 2008) (Fig. 2a)。マルハナバチ、アシナガバチ、スズメバチなどの他の社会性ハチ類と同様に、セイヨウミツバチの受精囊リザーバー上皮は円柱状であり、細胞内部には豊富なミトコンドリアが存在する一方、小胞体やゴルジ体が欠如しており、リザーバーの外側に基底膜 (basal membrane)、内側に微絨毛 (microvilli) がみられる。これらの微細構造から、これらの細胞には分泌機能はなく、イオンや塩、不要物を内側から外側へ排出する機能が備わっていることが示唆されている (Dallai, 1975)。セイヨウミツバチ女王の円柱上皮細胞が交尾や精子貯蔵期間が進むことによって厚くなること (Poole, 1970) や、ミツバチ上科の単独性種と様々な発達段階の社会性種の受精囊の観察により、リザーバーの厚さと社会性に相関があることが示されたこと (Pabalan et al., 1996; Martins and Serrão, 2002)、アリ科の一部の種のワーカーでみられる痕跡的な受精囊では、リザーバーの上皮細胞がすべて扁平状であり、ミトコンドリアなどの細胞小器官が発達していないこと (Gobin et al., 2006) から、円柱上皮細胞が精子の貯蔵機能に大きな役割を果たしていることが指摘されている。また、本種女王のリザーバーは気管 (trachea) に覆われており、酸素の供給が行われていると考えられている (Dallai, 1975)。受精囊腺は、他の膜翅目昆虫と同様に、分泌物を合成する分泌細胞 (secretory cell) と分泌物の通り道である管細胞 (duct cell) で構成されている。セイヨウミツバチでは、受精囊腺とリザーバー内液のタンパク質組成が一致していることから、受精囊腺由来の分泌物がリザーバー内に流入し、精子周辺環境に寄与していると考えられている (den Boer et al., 2009)。

セイヨウミツバチの受精囊の生理学的な研究は、1970 年頃に Verma のグループを中心に精力的になされており、受精囊内液にグルコース、フルクトース、スクロース、トレハロースが含まれており、体液と比較するとトレハロース濃度が低いこと (Alumot et al., 1969)、受精囊内液の pH が 8~9 程度と比較的高いこと (Lenskey and Schindler, 1967; Gessner and Gessner, 1976)、 Na^+ や K^+ イオン濃度が体液と比較して高いこと

(Verma, 1973a)、貯蔵されている精子の呼吸による代謝が射精された直後の精子よりも低いこと (Verma, 1973b)、受精嚢内の貯蔵精子は不動であることが報告されている (Lenskey and Schindler, 1967)。これらの研究から約 30 年後の 2004 年に、交尾後の女王の受精嚢において、未交尾女王の受精嚢よりも抗酸化酵素であるカタラーゼとグルタチオン-S-転移酵素遺伝子の発現が高いという研究が発表されたが (Collins et al., 2004)、これに至るまで、筆者が探した範囲内ではミツバチの受精嚢に関する研究は見つからない。2009 年には、プロテオーム解析というタンパク質の網羅的解析手法により、受精嚢内液に存在するタンパク質の種類が明らかにされ、熱ショックタンパク質や抗菌に関わるタンパク質が同定されている (Baer et al., 2009)。しかし、この研究では受精嚢内液と体液などの比較がないため、受精嚢内液で特徴的なタンパク質が検出されたかが不明である。ここで挙げたさまざまな研究により、セイヨウミツバチの受精嚢の特徴の理解は進んだが、それらの特徴が実際に長期間の精子貯蔵にどのように寄与しているか具体的なことは、いまだに不明なままである。セイヨウミツバチ女王の受精嚢は大きく、ある程度扱いやすい。その上、セイヨウミツバチでは女王への分化誘導や人工授精技術が確立されており、女王バチに対する遺伝子操作技術などで受精嚢の機能解析も原理的には可能であると考えられるため、今後の研究の進展が望まれる。

2-3. アリ

アリの受精嚢の基本的な構造は他の膜翅目昆虫と同様であるが、リザーバーの上皮細胞の構造が大きく異なる。アリ科の女王の受精嚢のリザーバーでは、受精嚢管が開口している付近の細胞層のみが厚い円柱上皮細胞で、他の部分は扁平状の上皮細胞層で構成されている (Wheeler and Krutzsch, 1994; Gobin et al., 2006) (Fig. 2b)。扁平上皮細胞には、ミトコンドリアなどの細胞小器官がほとんどなく、細胞機能は活発でないと考えられている。しかし、アリ科では、この構造をとることで、受精嚢内部の体積が増加し、他の社会性ハチ目昆虫と比較して膨大な数の精子を貯蔵することが可能になったことが示唆されている (Gotoh et al., 2009)。また、セイヨウミツバチ女王とは異なり、リザーバーは気管 (trachea) で覆われていない (Wheeler and Krutzsch, 1994)。この特徴はアシナガバチ亜科とスズメバチ亜科の種と同様である (Gotoh et al., 2008)。

社会性ハチ類における精子貯蔵メカニズムの研究がすすまなかった要因の一つに、実験に使用できるだけの女王の確保が非常に困難であることが挙げられる。前述したセイヨウミツバチの場合、交尾を終えて産卵している女王バチは、一つの巣に一個体のみであり、飼育スペースなどを考えると数十程度の個体数を確保することにも労力が必要である。そこで、筆者は、西日本で普通に見られるキイロシリアゲアリ (*Crematogaster osakensis*) に着目した。西日本では、キイロシリアゲアリの新女王アリとオスアリは 9 月の蒸し暑い夜に交尾のために飛行を行う (結婚飛行と呼ぶ)。この際、灯火に集まる習性があるため、結婚飛行の夜に明るい店舗や電灯などを探せば、一晩で数千から数

万の女王アリを集めることが可能である。さらに、キイロシリアゲアリは血縁関係のない複数の新女王アリが集合して巣を創設し、その協同社会を何年も維持できる一次多女王制という非常に珍しい社会構造をもつ (Gotoh et al., 2017a)。そのため、採集してきた新女王を同じ飼育ケースに入れられるために省スペースで飼育でき、容易に大量の女王アリを維持することができる。

キイロシリアゲアリ女王の受精囊のサイズは横幅が約 300um、縦幅が約 200um の俵型であり、他のアリと同様にその中には精子が密な状態で保存されている (Fig. 3)。著者らは、次世代シーケンサーを用いた RNA-seq 法により、体全体と比較して、受精囊で多く発現している遺伝子を網羅的に調べた (Gotoh et al., 2017b)。その結果、精子貯蔵に関与すると予想していた抗酸化酵素、シャペロンタンパク、抗菌タンパク、セリンプロテアーゼ、受精囊内環境に影響するイオンや糖輸送体、糖やアミノ酸などの合成酵素をコードすると考えられる遺伝子や、具体的な機能は不明だが、発現量が極めて多い遺伝子も見つかった (Table 1)。この中から興味深い 128 遺伝子について、受精囊のどの部位で発現しているかを *in situ* hybridization 法により特定した。受精囊腺で発現している遺伝子の中で、分泌していることを示唆するシグナル配列をもつ遺伝子は、そのタンパクがリザーバー内に分泌し、直接的に精子になんらかの影響を与えていると予想できる。また、リザーバー上皮細胞で発現している遺伝子は貯蔵精子から出た不要な代謝産物の排出や外界からの物質の供給に関与していると考えられる。発現部位を特定できたほとんどの遺伝子は、受精囊だけではなく、卵巣や中腸などの代謝が盛んでさまざまな遺伝子発現を必要とすると予想される器官でも発現していたが、その中で、受精囊のみで強く発現している遺伝子を 12 個発見した (Gotoh et al., 2017b) (Fig. 4)。このうち、9 遺伝子が受精囊腺で、2 遺伝子がリザーバー上皮細胞で、1 遺伝子がその両方で発現していた。受精囊腺特異的な 9 遺伝子のうちの 3 つは細胞外マトリックスに関わる遺伝子であり、リザーバー内の精子を高粘度の物質によって保護しているかもしれない。興味深いことに、受精囊特異的遺伝子は、他の生物において生殖にかかわる組織では発現が未知であるため、これらがアリ科の精子貯蔵に特殊化した機能をもつ遺伝子であることが期待できる。

今後は、これらの遺伝子がコードする受精囊特異的タンパク質が精子にどのような影響を与えているか解析を進める必要がある。アリの場合、候補に挙がっている遺伝子の機能の RNA 干渉法による阻害実験や、これらの遺伝子がコードするタンパク質を合成し、精子と共培養するなどの実験を行い、精子がどのような状態になるかを観察する必要がある。今後、このような研究を行うための実験系を確立する予定である。その際、キイロシリアゲアリ女王の大量に材料として使用できるという利点を生かして研究を進めていけると考えている。

おわりに

上述のように、昆虫のメスの精子貯蔵器官の機能を支える分子基盤についての研究はまだ始まったばかりであり、どのような役者がいるかは明らかになってきたが、それらがどのように働いているかは不明である。同じくメスの内部生殖器官である卵巣の機能を探る研究は数多く存在する一方で、受精嚢に関する研究は少なく、研究者人口も少ないのが現状である。裏を返せば、それだけ未開拓のテーマも多く、競合する研究者も数少ないために、研究の発展性も高いと言える。

近年、非モデル生物においてもさまざまな遺伝学的、分子生物学的解析方法が可能になったため、それらと生理学的な研究を組み合わせることで受精嚢機能を解明していく必要がある。将来的には、さまざまな分類群の種での知見を統合して、昆虫の多様な繁殖戦略を可能にするメカニズムがどのように進化してきたかを解明できると期待している。例えば、社会性ハチ類では、社会性の発達にともない、大きなコロニー（＝膨大な貯蔵精子数）とコロニー寿命の長期化（＝女王の寿命＝精子貯蔵期間の長期化）がみられる傾向がある。そのため、社会性が特に発達しているミツバチやアリ科女王の卓越した精子貯蔵メカニズムを明らかにした後に、他のハチ目昆虫と比較することで、社会性発達の進化の道筋を精子貯蔵メカニズムの進化という側面から理解することにつながり、進化生態学、社会生物学的にも重要な知見となるであろう。

引用文献

- Alfonso-Parra, C., Ahmed-Braimah, Y. H., Degner, E. C., Avila, F. W., Villarreal, S. M., Pleiss, J. A., Wolfner, M. F. and Harrington, L. C. (2016) Mating-induced transcriptome changes in the reproductive tract of female *Aedes aegypti*. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **10**, e0004451.
- Allen, A. K. and Spradling, A. C. (2008) The *Sf1*-related nuclear hormone receptor *Hr39* regulates *Drosophila* female reproductive tract development and function. *Development* **135**, 311–321.
- Alumot, E., Lensky, Y. and Holstein, P. (1969) Sugars and trehalase in the reproductive organs and hemolymph of the queen and drone honey bees (*Apis mellifica* L. var. *Ligustica* spin.). *Comparative Biochemistry and Physiology* **28**, 1419–1425.

- Anderson, R. C. (1945) A study of the factors affecting fertility of *lozenge* females of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **30**, 280.
- Avila, F. W., Sirot L. K., LaFlamme, B. A., Rubinstein, C. D. and Wolfner, M. F. (2011) Insect seminal fluid proteins: identification and function. *Annual Review of Entomology* **56**, 21–40.
- Baer, B., Eubel, H., Taylor, N. L., O'Toole, N. and Millar, A. H. (2009) Insights into female sperm storage from the spermathecal fluid proteome of the honeybee *Apis mellifera*. *Genome Biology* **10**, R67.
- Cesari, A., de Monclus, M. L., Tejón, G. P., Clementi, M. and Fornes, M. W. (2010) Regulated serine proteinase lytic system on mammalian sperm surface: There must be a role. *Theriogenology* **74**, 699–711.
- Cobey, S. (2007) Comparison of instrumental inseminated and naturally mated honeybee queens and factors affecting their performance. *Apidologie* **38**, 390–410.
- Collins, A. M., Williams, V. and Evans, J. D. (2004) Sperm storage and antioxidative enzyme expression in the honey bee, *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology* **13**, 141–146.
- Costa-Leonardo, A. M. and Patricio, G. B. (2005) Structure of the spermatheca in five families of Isoptera. *Sociobiology* **45**, 659–670.
- Dade, H. A. (1977) "Anatomy and dissection of the honeybee." Bee Research Association.
- Dallai, R. (1975) Fine structure of the spermatheca of *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology* **21**, 89–109.
- den Boer, S. P. A., Boomsma, J. J. and Baer, B. (2009) Honey bee males and queens use glandular secretions to enhance sperm viability before and after storage. *Journal of Insect Physiology* **55**, 538–543.
- Friedländer, M., Jeshtadi, A. and Reynolds, S. E. (2001) The structural mechanism of trypsin-induced intrinsic motility in *Manduca sexta* spermatozoa *in vitro*. *Journal of Insect Physiology* **47**, 245–255.
- Gessner, B. and Gessner, K. (1976) Inorganic ions in spermathecal fluid and their transport across the spermathecal membrane of the queen bee, *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology* **22**, 1469–1474.
- Gobin, B., Ito, F., Peeters, C. and Billen, J. (2006) Queen-worker differences in spermatheca reservoir of phylogenetically basal ants. *Cell and Tissue Research* **326**, 169–178.
- Gotoh, A., Billen, J., Hashim, R. and Ito, F. (2008) Comparison of spermatheca morphology between reproductive and non-reproductive females in social wasps. *Arthropod Structure and Development* **37**, 199–209.

- Gotoh, A., Billen, J., Hashim, R. and Ito, F. (2009) Evolution of specialized spermatheca morphology in ant queens: Insight from comparative developmental biology between ants and polistine wasps. *Arthropod structure and development* **38**, 521–525.
- Gotoh, A., Dansho, M., Dobata, S., Ikeshita, Y. and Ito, F. (2017a) Social structure of the polygynous ant, *Crematogaster osakensis*. *Insectes Sociaux* **64**, 123–131.
- Gotoh, A., Shigenobu, S., Yamaguchi, K., Kobayashi, S., Ito, F. and Tsuji, K. (2017b) Transcriptome profiling of the spermatheca identifies genes potentially involved in the long-term sperm storage of ant queens. *Scientific Reports* **7**, 5972.
- Hayashi, F. and Tsuchiya, K. (2005) Functional association between female sperm storage organs and male sperm removal organs in calopterygid damselflies. *Entomological Science* **8**, 245–252.
- Honeybee Genome Sequencing Consortium. (2006) Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature* **443**, 931.
- Kamimura, Y. (2000) Possible removal of rival sperm by the elongated genitalia of the earwig, *Euborellia plebeja*. *Zoological Science* **17**, 667–672.
- Keller, L. (1998) Queen lifespan and colony characteristics in ants and termites. *Insectes Sociaux* **45**, 235–246.
- Lensky, Y. and Schindler H. (1967) Motility and reversible inactivation of honeybee spermatozoa in vivo and in vitro. *Les Annales de l'Abeille* **10**, 5–16.
- Mack, P. D., Kapelnikov, A., Heifetz, Y. and Bender, M. (2006) Mating-responsive genes in reproductive tissues of female *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**, 10358–10363.
- Martins, G. F. and Serrão, J. E. (2002) A comparative study of the spermatheca in bees (Hymenoptera; Apoidea). *Sociobiology* **40**, 711–720.
- Martins, G. F., Serrão, J. E. and Furieri, K. S. (2005) Notes of the spermatheca of Vespidae and Sphecidae (Hymenoptera). *Sociobiology* **45**, 119–127.
- Matsuda, R. (1976) "Morphology and Evolution of the Insect Abdomen." Pergamon Press.
- Miyata, H., Thaler, C. D., Haimo, L. T. and Cardullo, R. A. (2012) Protease activation and the signal transduction pathway regulating motility in sperm from the water strider *Aquarius remigis*. *Cytoskeleton* **69**, 207–220.
- Nagaoka, S., Kato, K., Takata, Y. and Kamei, K. (2012) Identification of the sperm-activating factor initiatorin, a prostatic endopeptidase of the silkworm. *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* **42**, 571–582.
- Orr, T. J. and Zuk, M. (2012) Sperm storage. *Current Biology* **22**, R8–R10.

- Osanai, M., Kasuga, H. and Aigaki, T. (1989) Induction of motility of apyrene spermatozoa and dissociation of eupyrene sperm bundles of the silkworm, *Bombyx mori*, by initiatorin and trypsin. *Invertebrate Reproduction and Development* **15**, 97–103.
- Pabalan, N., Davey, K. G. and Packer, L. (1996) Comparative morphology of spermathecae in solitary and primitively eusocial bees (Hymenoptera: Apidea). *Canadian Journal of Zoology* **74**, 802–808.
- Poole, H. K. (1970) The wall structure of the honey bees spermatheca with comments about its function. *Annals of the Entomological Society of America* **63**, 1625–1628.
- Prokupek, A., Hoffmann, F., Eyun, S. I., Moriyama, E., Zhou, M. and Harshman, L. (2008) An evolutionary expressed sequence tag analysis of *Drosophila* spermatheca genes. *Evolution* **62**, 2936–2947.
- Prokupek, A. M., Kachman, S. D., Ladunga, I. and Harshman, L. G. (2009) Transcriptional profiling of the sperm storage organs of *Drosophila melanogaster*. *Insect Molecular Biology* **18**, 465–475.
- Ravi Ram, K. and Wolfner, M. F. (2007) Seminal influences: *Drosophila* Acps and the molecular interplay between males and females during reproduction. *Integrative and Comparative Biology* **47**, 427–445. <http://doi.org/10.1093/icb/icm046>
- Schnakenberg, S. L., Matias, W. R. and Siegal, M. L. (2011) Sperm-storage defects and live birth in *Drosophila* females lacking spermathecal secretory cells. *PLOS Biology* **9**, e1001192.
- Schoeters, E. and Billen, J. (2000) The importance of the spermathecal duct in bumblebees. *Journal of Insect Physiology* **46**, 1303–1312.
- Simmons, L. W. (2001) "Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects." Princeton University Press, Princeton.
- Snodgrass, R. E. (1993) The internal organs of reproduction. *In* "Principles of Insect Morphology", pp. 48–69. Cornell University press, Ithaca and London.
- Sun, J. and Spradling, A. C. (2012) NR5A nuclear receptor Hr39 controls three-cell secretory unit formation in *Drosophila* female reproductive glands. *Current Biology* **22**, 862–871.
- Verma, L. R. (1973a) An ionic basis for a possible mechanism of sperm survival in the spermatheca of the queen honey bee (*Apis mellifera* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology* **44A**, 1325–1331.
- Verma, L. R. and Shuel, R. W. (1973b). Respiratory metabolism of the semen of the honey-bee, *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology* **19**, 97–103.

- Wheeler, D. E. and Krutzsch, P. H. (1994) Ultrastructure of the spermatheca and its associated gland in the ant *Crematogaster opuntiae* (Hymenoptera, Formicidae). *Zoology* **114**, 203–212.
- Wilson, E. O. (1971) "The Insect Societies." Harvard University Press, Cambridge.
- Wolfner, M.F. (2011) Precious Essences: Female Secretions Promote Sperm Storage in *Drosophila*. *PLOS Biology* **9**, e1001191. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001191>

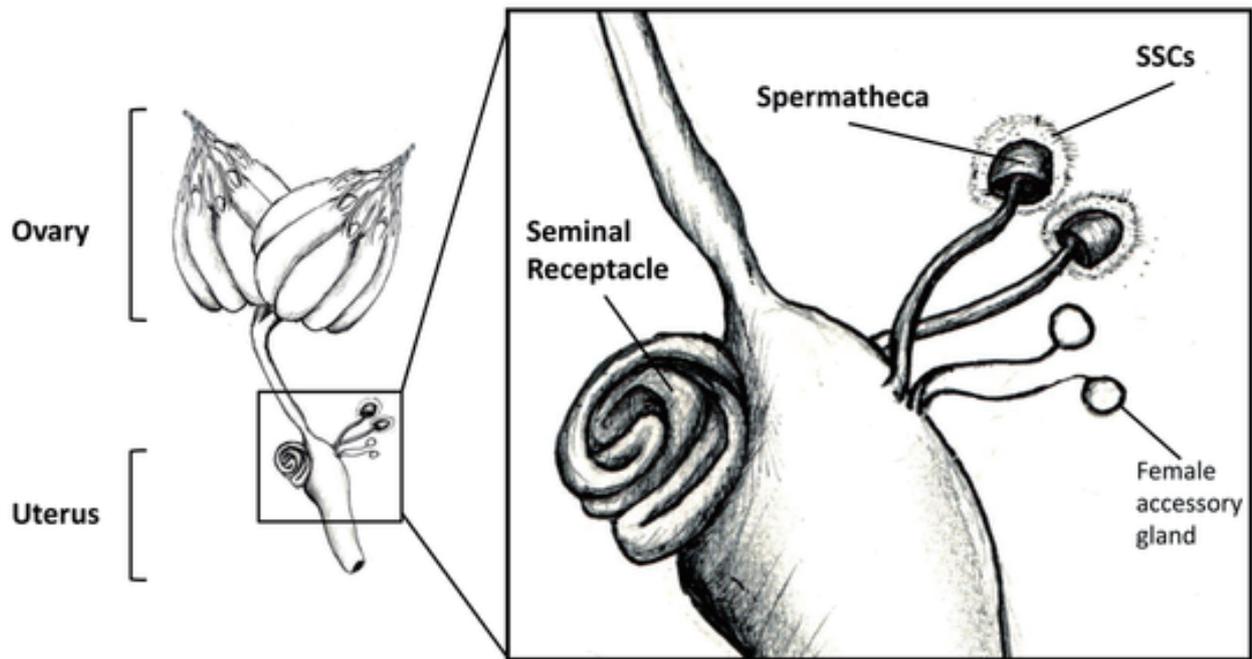


Fig. 1 キイロショウジョウバエのメスの内部生殖器。Wolfner (2011) より引用。SSCs: 分泌細胞。

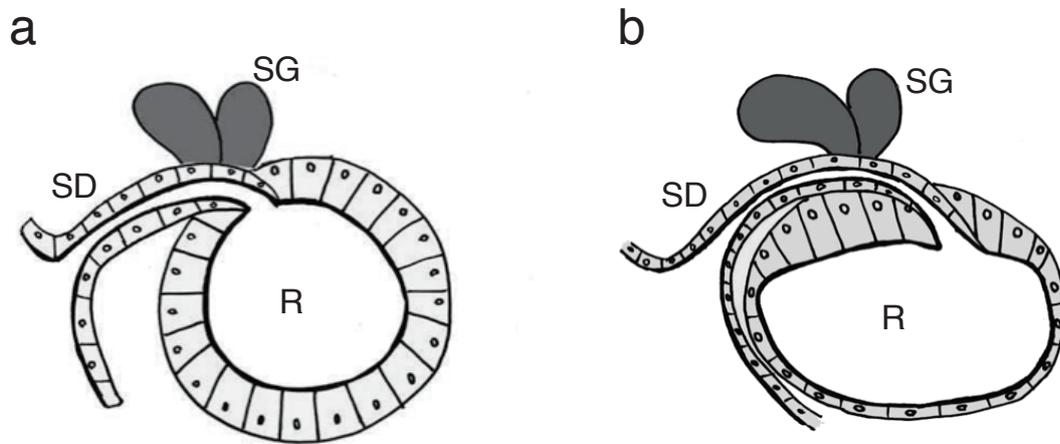


Fig. 2 セイヨウミツバチ女王 (a) とアリ科女王 (b) の受精嚢形態の模式図。R: 受精嚢リザーバー、SD: 受精嚢管、SG: 受精嚢腺。



Fig. 3 キイロシリアゲアリ女王の受精嚢内で貯蔵されている精子。線状に見える構造はすべて精子である。

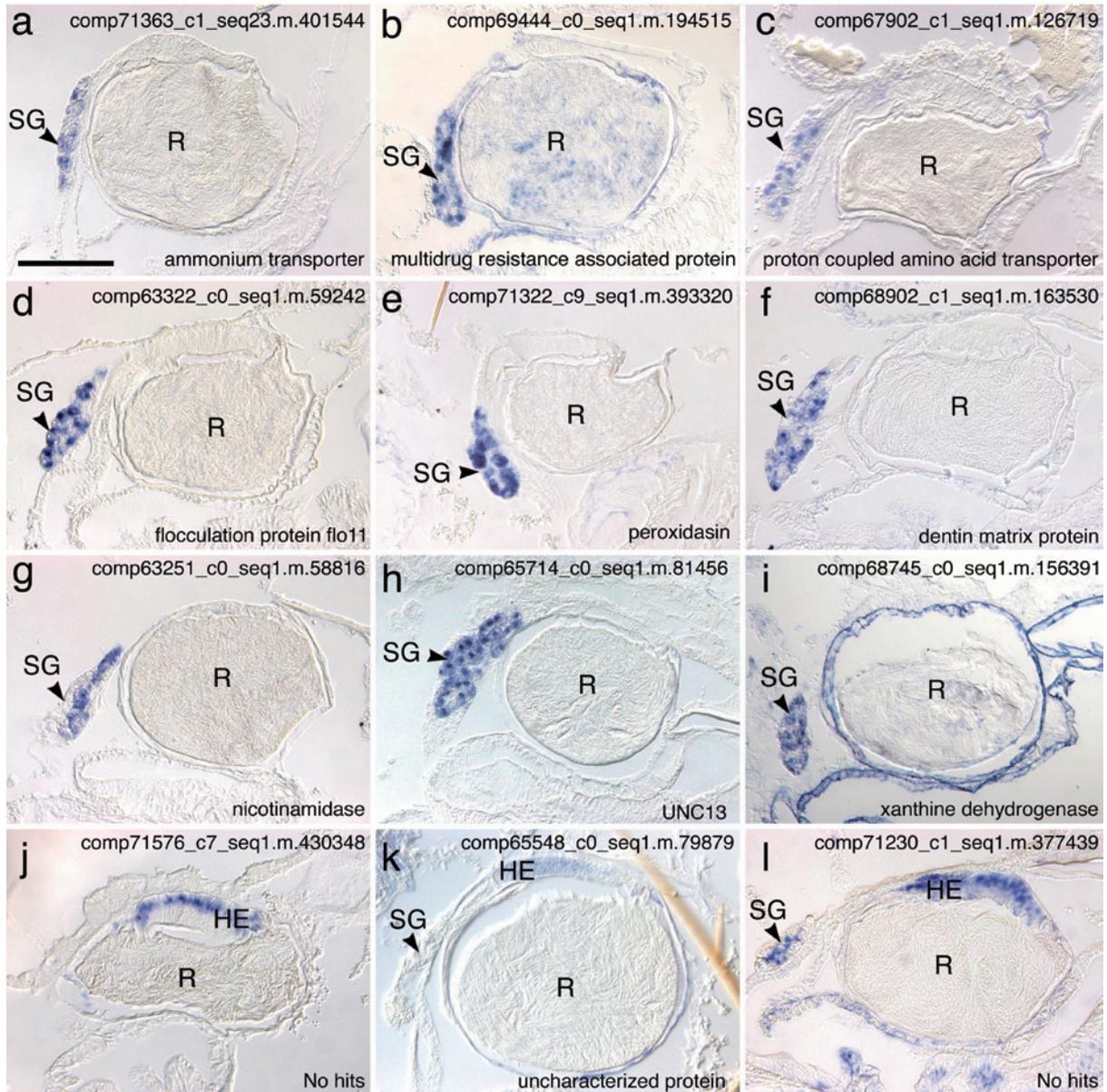


Fig. 4 キイロシリアゲアリ女王の受精囊で特異的な発現をしている12遺伝子の発現パターン (Gotoh et al., 2017b)。Scale bar, 100 μm; HE: 受精囊リザーバーの円柱上皮細胞、R: 受精囊リザーバー、SG: 受精囊腺。

Table 1 受精嚢で高発現している遺伝子の例 (Gotoh et al., 2017b) より抜粋。

Category	Contig No.	Predicted genes	Signal sequence	Expression pattern*
Antioxidant	comp70976_c0_seq1.m.342323	PREDICTED: uncharacterized protein LOC105565138	-	Failed
"	comp56723_c0_seq1.m.35720	superoxide dismutase	-	HE, MG, OV
"	comp33014_c0_seq1.m.14779	peroxiredoxin- mitochondrial	-	MG, SG
Chaperone	comp63273_c0_seq1.m.58938	protein lethal essential for life-like	-	OV, SG
"	comp71039_c10_seq1.m.351826	protein charybde-like	-	HE, MG, OV, SG
"	comp69851_c2_seq1.m.223848	heat shock 70 kda protein cognate 4	-	HE, MG, OV, SG
Transporter and channel	comp66765_c0_seq1.m.99406	nose resistant to fluoxetine protein 6	-	Failed
"	comp70810_c0_seq1.m.322233	sodium-independent sulfate anion transporter	-	HE, MG, OV, SG
"	comp69671_c1_seq1.m.212720	facilitated trehalose transporter tret1	-	MG, OV, SG
"	comp71363_c1_seq23.m.401544	ammonium transporter rh type a isoform	-	SG
"	comp70992_c5_seq1.m.344700	facilitated trehalose transporter tret1-like	-	MG, OV, SG
"	comp69444_c0_seq1.m.194515	multidrug resistance-associated protein 4-like	-	SG
"	comp67902_c1_seq1.m.126719	proton-coupled amino acid transporter 1-like isoform	-	SG
"	comp70337_c0_seq1.m.269473	potassium voltage-gated channel subfamily h member 2 isoform	-	HE, MG, OV, SG (central duct)
Energy metabolism	comp70771_c0_seq1.m.316801	maltase a2-like isoform	-	-
"	comp55829_c0_seq1.m.33328	L-lactate dehydrogenase-like	-	-
"	comp67380_c0_seq1.m.112336	hexokinase type 2 isoform	-	MG, OV, SG
"	comp71645_c0_seq1.m.442441	glucose dehydrogenase	-	MG, SG
"	comp71373_c0_seq1.m.402567	succinate dehydrogenase	-	-
Extracellular matrix related	comp63322_c0_seq1.m.59242	flocculation protein flo11-like	-	SG
"	comp64346_c0_seq1.m.68928	flocculation protein flo11-like	YES	MG, OV, SG
"	comp63194_c1_seq1.m.58387	chondroitin proteoglycan-2-like	YES	HE, MG, OV, SG
"	comp71322_c9_seq1.m.393320	peroxidasin	-	SG
"	comp68902_c1_seq1.m.163530	dentin matrix protein 4-like protein	-	SG
"	comp70138_c0_seq1.m.249533	hyaluronidase-like	YES	-
Protease	comp65714_c0_seq1.m.81458	trypsin epsilon-like	-	-
"	comp56664_c0_seq1.m.35571	a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs	YES	Failed
"	comp71039_c3_seq1.m.351761	thyrotropin-releasing hormone-degrading ectoenzyme-like	-	CO, GC, SG
"	comp65462_c0_seq1.m.78928	angiotensin-converting enzyme-like	YES	OV, SG
Protease inhibitor	comp70125_c3_seq13.m.248874	plasminogen activator inhibitor 1	YES	OV, SG
Others	comp56610_c0_seq1.m.35452	No hits	-	OV, SG
"	comp65548_c0_seq1.m.79879	PREDICTED: uncharacterized protein LOC105561087	YES	HE
"	comp63251_c0_seq1.m.58816	nicotinamidase-like	-	SG (central duct)
"	comp71576_c7_seq1.m.430348	No hits	-	HE
"	comp62775_c0_seq1.m.55873	protein lethal malignant blood neoplasm 1	YES	OV, SG
"	comp71109_c1_seq1.m.360019	protein lozenge	-	MG, OV, SG (central duct cell)
"	comp71230_c1_seq1.m.377439	No hits	YES	HE, SG (central duct cell)
"	comp70822_c1_seq1.m.323463	ets translocation variant 1	-	FB, GC, HE, MG, OV, SD, SG
"	comp55892_c0_seq1.m.33472	protein takeout-like	YES	MG, OV
"	comp65714_c0_seq1.m.81456	protein unc-13 homolog d isoform	-	SG
"	comp68745_c0_seq1.m.156391	xanthine dehydrogenase	-	SG
"	comp72284_c0_seq1.m.514027	pheromone-binding protein gp-9-like	YES	GC, SG
"	comp65703_c0_seq1.m.81364	vitellogenin precursor	YES	-

* Failed=no signals, GC=genital chamber, SG=spermathecal gland, HE=hilar columnar epithelial cells of spermatheca reservoir, SD=spermathecal duct, OV=ovary, MG=midgut, CO=common oviduct.