

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19214

研究課題名(和文) 体表脂質による昆虫のコミュニケーション：機械的受容器を用いる新しい機構の提案

研究課題名(英文) Communication of insects through body surface lipids: proposal of a new mechanism employing mechanoreceptors

研究代表者

金子 文俊 (Kaneko, Fumitoshi)

大阪大学・理学研究科・准教授

研究者番号：70214468

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：昆虫体表の最も外側の部分は、薄い(0.1-1 μ m程度)脂質層である。この体表脂質は外部環境に適応するためのバリア機能に加えて、昆虫間でのコミュニケーションに活用されている。本研究では、昆虫が脂質の化学組成の違いだけでなく、物性の違いを触角の機械的受容器を利用して検出しコミュニケーションを行う可能性に注目し研究を行った。

雌雄間で体表脂質の組成が異なるクロコオロギ等について、昆虫体表の構造・物性を中心に研究を進めた。昆虫体表における摩擦力は明らかに、体表脂質の有無、および雌雄間の組成の違いに依存して異なっており、この違いが機械的受容器により検出されている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

化学物質を利用する昆虫間コミュニケーションは、多くの分野から注目を集め、微量検出技術の発展により急速に研究が展開している。この流れで体表脂質の組成の違いを化学的受容器を用いて検出する昆虫間コミュニケーション機構についても多くの研究が行われてきたが、触角上にある機械的受容器を用いて体表脂質の物性の違いを感じ取る昆虫間コミュニケーションの機構に注目した研究はこれまで行われていない。

本成果は、脂質構造化学、昆虫生化学、表面分析の異なる専門分野の研究者が協力し、その場分析の手法の特性を生かして、具体的に体表脂質に由来する昆虫体表物性の違いを検証した最初の例である。

研究成果の概要(英文)：The outermost layer of insects is a very thin layer (0.1-1 μ m) of hydrocarbons. In addition to their barrier functions to adopt the environment, the body lipid is used for the communication between insects. Although it is the common view that insects communicate each other by detecting the difference in the chemical composition of the body lipid by using chemical sensors on antennae, we have postulated the possibility that insects also detect the difference in the physical properties by mechanical sensors.

To inspect the validity of this postulation, the body lipid of the field cricket, which shows a gender gap in composition, has been studied with respect to the structure and properties at in-situ on body surfaces by using atomic force microscopy (AFM) and other methods. The friction force detected by AFM is clearly different between male, female, and degreased body surfaces, which strongly suggests that such differences are detected by the mechanical sensor systems of insects.

研究分野：高分子化合物と脂質化合物の構造化学および物理化学

キーワード：体表脂質 昆虫間コミュニケーション 機械的受容器 クロコオロギ 不飽和脂質

様式 F-19-2

1. 研究開始当初の背景

陸生の動植物は、生命活動を維持するために耐乾燥性を獲得している。特に昆虫は、体容積に対して表面積の比率が高いために、生存戦略における耐乾燥性は重要な位置を占める。昆虫体表はクチクラと呼ばれる層状組織をもち、その最表面部は水分の蒸散を抑制するための体表脂質（あるいはワックス）と呼ばれる $0.1 - 1 \mu\text{m}$ 程度と評価されている薄い脂質層である (N. Hadley, Am. Sci. 1980)。

昆虫体表脂質は外部環境に適応するためのバリア機能以外にも、重要な役割がある。近年の昆虫脂質研究の成果により、昆虫は体表脂質組成の違いを利用し様々な情報交換（化学コミュニケーション）を行うことが明らかになった。

昆虫が化学物質を用いてコミュニケーションを行う可能性については、19世紀のファーブル以降多くの研究者の関心を集めてきた。そして実証的な研究としても1950年代のブテナントの性フェロモン研究に始まる長い歴史がある。昆虫の体表脂質についてもガスクロマトグラフィーなどの分析技術を駆使して、脂質組成分析が進んだ。そして昆虫体表脂質の組成は種、性、カースト等に依存することが明らかになり、現在では昆虫は体表脂質に含まれる脂質種の違いを利用して相互認識、いわゆる化学コミュニケーションを行うと理解されている。これまで化学コミュニケーション機構は、昆虫が触角上の化学的受容器で体表脂質の化学種の違いを判別して情報収集するプロセスであると考えられている。

2. 研究の目的

私たちは、上述の化学受容器を利用して組成の違いを感じ取る機構以外に、もう一つ重要な機構が存在すると推測した。それは触角の機械的受容器を通じたコミュニケーションである。

脂質構造化学分野の知見によると、脂質組成の違いは脂質集合体の構造と物性に著しい変化をもたらす。従って、脂質組成に依存して体表脂質の組織構造および粘弾性などの物性に現れる変化を、昆虫は機械的受容器で感じとっている可能性が非常に大きい。体表脂質の物理的な差異を通じての昆虫コミュニケーション機構は、ほとんど検討されていなかった。

脂質層は薄く、光学的に不透明で厚いキチン層 ($10-100 \mu\text{m}$ オーダー) の上にあり、構造・物性評価が大変困難であるが、近年進歩が著しい分子構造解析技術や表面・局所分析の手法を導入すると、その場観察の手法を用いて体表脂質の構造・物性を詳細に調べることが可能であると判断した。

本研究は、①最新の測定技術を駆使し、昆虫体表脂質の構造・物性を評価する手法を確立し、②昆虫の種類や性に由来する脂質組成の違いにより、どのように表面脂質の構造ならびに物性が変化するかを明らかにし、③その結果をもとに、体表脂質の構造・物性変化を利用した昆虫のコミュニケーション機構の妥当性の検証を行う、ことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 試料 主な研究対象として、体表脂質組成に性差があることが判明しているフタホシコオロギを選んだ。また比較のためにワモンゴキブリについても調査した。昆虫から採取した各部位をそのまま各種その場測定に供することに加えて、翅より有機溶剤を用いて抽出・精製した体表脂質試料も準備した。

(2) 体表脂質の構造・物性評価

a. 顕微赤外マッピング測定 高輝度放射光施設 SPring-8 (兵庫県) の赤外領域放射光を光源として、顕微赤外 ATR 法を用いた二次元マッピング測定を行った。高屈折率プリズム (Ge) を利用して、下地のクチクラ層の影響を減らして昆虫各部位の表面における体表脂質の分布を調べた。

b. 原子間力顕微鏡 (AFM) と走査光学顕微による鏡観察 表面における体表脂質の状態、温度変化挙動を観察した。また AFM 測定では、探針を試料面に対して水平方向に移動した際にカンチレバーがうける抵抗 (水平力) を測定した。

c. 抽出した体表脂質の評価 高エネルギー加速器研究機構の放射光施設 (茨城県) を利用して X 線小角・広角散乱同時測定により、各種体表脂質試料の構造評価および物性評価を行った。

d. 熱分析 高感度 DSC 装置により、直接体表における脂質試料の熱挙動を調べた。

4. 研究成果

(1) 体表脂質の分布

SPring-8 で行ったフタホシコオロギの前翅における二次元マッピング測定結果を図 1 に示す。この図では、体表脂質に由来する CH_2 伸縮振動バンドの強度分布を示している。

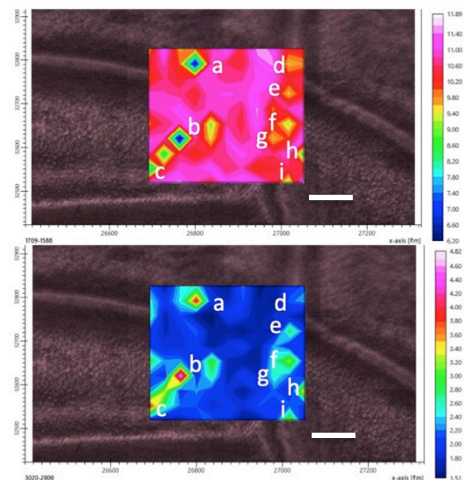


図1 赤外放射光-顕微赤外 ATR 分光法による二次元マッピング測定結果
上: キチン由来アミドバンド強度分布、
下: 炭化水素鎖由来 CH 伸縮振動バンドの強度分布 (白いスケールは 0.1mm)

この測定の結果、CH₂伸縮振動バンドの強度は測定位置に依存して大きく変化し、特定の場所で非常に大きな強度を示すことが明らかになった(図1下)。一方、クチクラの主成分であるキチン由来のアミドバンドの強度分布を調べると、体表脂質 CH₂伸縮振動バンドの強度が強い部分では、逆にアミドバンドの強度が著しく減少することが明らかになった(図1上)。ATR分光法では試料表面近傍の領域のみ(1μm以下)が測定対象であるため、この結果は体表脂質層は厚みに関して著しい不均一性を示すことを意味している。

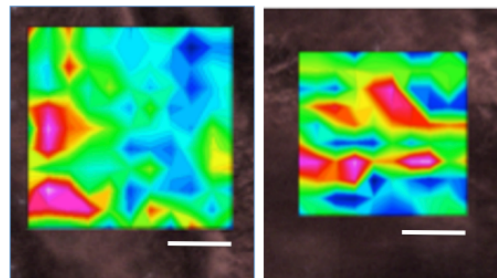


図2. フタホシコオロギの前翅における体表脂質 CH 伸縮振動バンドの強度分布(左:♂、右:♀)

同様にフタホシコオロギの雌雄について体表脂質の分布をマッピング測定で比較すると、図2に示すように♂♀共に C-H 伸縮振動領域の積分強度は場所に依存して大きく変動しており、どちらにおいても体表脂質の分布には著しい偏りがあることが分かった。またフタホシコオロギの翅だけでなく他の部位でも同様の違いがみられること、ワモンゴキブリでも同様な違いが観測されたことから、体表脂質の不均一分布は昆虫の性差や種類によるものではなく、広く昆虫に見られる現象である可能性が高まった。

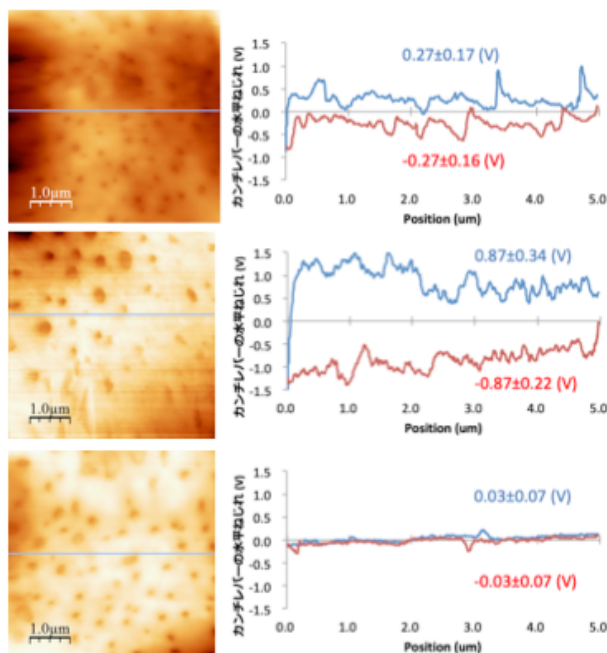


図3. AFM で得たフタホシコオロギ前翅のトポグラフィカル像および水平力測定結果。

上:♂、中:♀、下:脱脂♀。
水平力の青線は左→右への走査、赤線は右→左への走査結果を示している。

この結果は、①これまで定説であった"昆虫外骨格をほぼ均一に覆う脂質層"という昆虫体表モデルを覆し、②今後は厚さが不均一である体表脂質を前提として体表脂質の機能・構造、さらには昆虫生理機能を研究する必要があることを示唆し、非常に重要である。

体表脂質の分布に関しては雌雄差は見られなかったが、不飽和炭化水素鎖由来の=C-H バンドはフタホシコオロギでは♂のみに認められ、組成に関する雌雄差を確認できた。

(2) AFM における水平力測定

AFM 探針を試料表面に押し当て、試料表面に対して水平に移動させる際にカンチレバーがうける抵抗力の違いを、フタホシコオロギ♂と♀の前翅、そして♀の脱脂した前翅との間で比較した。図3に示すように、試料間に顕著なトポグラフィカルな違いはないが、水平力に関しては著しい違いが見られる。

♀の前翅表面上(図3中)ではカンチレバーは、♂の前翅表面上(図3上)と比較して3倍以上の水平力を受けている。しかし、脱脂した♀の前翅表面上では殆ど水平力を受けていない。

この結果は、AFM 探針がクチクラ表面上で面に沿って移動する際に生じる摩擦力は、ほとんど体表脂質が決定していることを意味している。フタホシコオロギでは、♂のみが体表脂質に不飽和炭化水素を約15%含んでいる。不飽和炭化水素鎖は、脂質系の凝集力を低下させる性質をもつため、♂の体表脂質は♀のものに比べてより柔軟性が高くなることが予測される。これが AFM の水平力測定の結果に反映されたと考えられる。

フタホシコオロギ♂は、交尾に先だち触覚で♀前翅に接触する行動を行う。触覚上の機械的受容器は微細な棘状構造をもち、この棘が AFM の探針と同様に、クチクラ表面上で動く際に体表脂質から摩擦力を受けることになる。これを通じて性差に由来する摩擦力の違いを感じ取ることも、交尾行動に移る一つの条件となり得ることが強く示唆される。

(3) 抽出体表脂質の構造・物性の違い

フタホシコオロギの性差に依存する体表脂質の構造・物性の変化が、X線散乱実験や熱分析等においても確認された。例えば、抽出体表脂質試料を用いた放射光 X線散乱では、♂の♀の体表脂質の間には、構造と物性の両面で異なる特徴が観測された。

図4は、小角散乱領域における体表脂質の温度変化挙動である。体表脂質が多成分系であることを反映して、♂♀共に構造の異なる結晶領域に由来する3つの反射が現れる。その

内、広角側の2つの反射は♀で明らかに低角側に現れ、♀の体表脂質がより長い周期構造の結晶領域を形成することが分かる。冷却過程では、この3つの反射はそれぞれ異なる温度で出現するが、いずれも♀でより速やかな強度増大とより狭い半値巾を示した。

以上のX線散乱の結果より、(a)♂と比べて♀の体表脂質は、より大きな周期構造と高い融点の結晶相を形成する傾向があること、(b)♀の結晶相はより高い秩序性をもつこと、が示唆される。このような体表脂質の構造・物性の違いが、クチクラ表面における体表脂質の性質と機能に反映されていると考えられる。より具体的にこの関係を明らかにしていくことが、今後の重要な課題である。

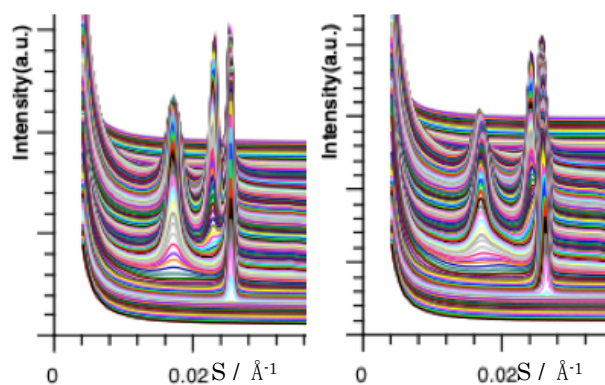


図4. 抽出したフタホシコオロギの体表脂質の小角X線散乱領域の変化。左：♀、右：♂。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kaneko Fumitoshi, Katagiri Chihiro, Sasaki Gen, Nagashima Ken	4. 巻 122
2. 論文標題 ATR FTIR Spectroscopic Study on Insect Body Surface Lipids Rich in Methylene-Interrupted Diene	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 12322 ~ 12330
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.jpcc.8b10026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 金子文俊、片桐千仞、長嶋剣、佐崎元	4. 巻 54
2. 論文標題 昆虫の体表脂質構造への赤外分光法によるアプローチ：透湿性との関わり	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 昆虫と自然	6. 最初と最後の頁 31 - 32
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 金子 文俊 ・ 片桐 千仞 ・ 長嶋 剣 ・ 佐崎 元
2. 発表標題 赤外分光法による炭化水素混合系に関する研究: 昆虫体 表の炭化水素
3. 学会等名 高分子学会年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金子 文俊 ・ 片桐 千仞 ・ 長嶋 剣 ・ 佐崎 元 ・ 池本 夕佳
2. 発表標題 赤外分光法による昆虫体表脂質の構造と分布に関する研究
3. 学会等名 日本昆虫学会第79回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金子 文俊 ・片桐 千仞 ・長嶋 剣 ・佐 崎 元
2. 発表標題 昆虫体表脂質の構造と分布の不均一性について
3. 学会等名 関西昆虫学研究会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金子文俊・片桐千仞・長嶋剣・佐崎元
2. 発表標題 構造化学的手法による昆虫体表脂質の構造・物性と分布に関する研究
3. 学会等名 令和2年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金子文俊、片桐千仞
2. 発表標題 飽和と不飽和炭化水素は昆虫体表をどのように覆っているか 赤外光を利用した表面分析によるアプローチ
3. 学会等名 関東昆虫学研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金子文俊、片桐千仞、長嶋剣、佐崎元
2. 発表標題 赤外分光法からみたワモンゴキブリ体表脂質の特徴: 飽和炭化水素と不飽和炭化水素の混在状態
3. 学会等名 関西昆虫学研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fumitoshi Kaneko、Chihiro Katagiri、 Gen Sazaki、 Ken Nagashima
2. 発表標題 An Approach to Insect Body Lipids by FTIR Spectroscopy
3. 学会等名 日本化学会春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金子文俊、片桐千仞、長嶋剣、佐崎元
2. 発表標題 赤外分光法による炭化水素混合系に関する研究：昆虫体表の炭化水素
3. 学会等名 高分子学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐崎 元 (Sazaki Gen) (60261509)	北海道大学・低温科学研究所・教授 (10101)	
研究分担者	長嶋 剣 (Nagashima Ken) (60436079)	北海道大学・低温科学研究所・助教 (10101)	
研究分担者	片桐 千仞 (Katagiri Chihiro) (90002245)	株式会社数理設計研究所・その他部局等・研究員(移行) (92302)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	後藤 慎介 (Goto Shinsuke) (70347483)	大阪市立大学・理学研究科・教授 (24402)	
連携研究者	池本 夕佳 (Ikemoto Yuka) (70344398)	公益財団法人高輝度光科学研究センター・利用研究促進部門・主幹研究員 (84502)	