

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：63904

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2014

課題番号：23657162

研究課題名(和文) ピンクのカマキリはどうやって生まれたか：花に擬態するランカマキリの体色進化の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism responsible for the unique pink coloration of the orchid mantis

## 研究代表者

真野 弘明 (Mano, Hiroaki)

基礎生物学研究所・生物進化研究部門・研究員

研究者番号：80376558

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：ランカマキリは花に類似した姿をした擬態昆虫である。これまでに我々は、ランカマキリの体色を生成する色素分子としてキサントマチンを同定した。しかし、キサントマチン自体は昆虫において広く存在する色素であり、これがどのようにして特有のピンク色を形成しているのかは不明であった。本研究の生化学的解析により、キサントマチンには実は3種類の類縁分子が存在し、その組成の違いによって異なる体色が生成されると示唆された。また、電子顕微鏡を用いた観察により、ランカマキリ体内においてはキサントマチン分子が特殊な細胞内構造を取っていることが明らかになった。これらのメカニズムによって特有の体色が生成されると考えられた。

研究成果の概要(英文)：An excellent example of mimicry is the flower-mimicry of the orchid mantis *Hymenopus coronatus* with pink and white coloration and petal-like legs. Biochemical analyses indicated that the reduced form of xanthommatin contributes to the pink body coloration. However, xanthommatin is distributed widely among insects and it still remains unclear how the common pigment form the unique pink coloration of the orchid mantis. In this study, we identified three different types of xanthommatin isoforms and found that their composition varies in mantises having different body colors. We also found that pigment granules in the orchid mantis have unique ultra-structures, which may contribute to the unique pink coloration of the mantis.

研究分野：生物学

キーワード：ランカマキリ 色素 体色 酸化還元 キサントマチン 擬態 生化学 電子顕微鏡

## 1. 研究開始当初の背景

適応進化のプロセスは、ときに信じがたいほどに複雑な形質をもった生物を作り出す。一部の昆虫にみられる隠蔽的擬態 (mimesis) の精巧さは、その最たるものの1つだろう。擬態昆虫の代名詞的存在であるランカマキリ (*Hymenopus coronatus*) は、東南アジアに生息する、花にそっくりな姿をしたカマキリである。ランカマキリの擬態は、白色~ピンク色の体色や中後脚にある花弁様構造のような形態的な要素に加え、花の上に好んで定位する性質や自身をより花らしく見せる独特の姿勢といった行動レベルの要素など、多数の要素から成り立っている。非常に不思議なことに、これらの中にはたとえば「体色」と「花の上への定位」のように、同時に出現しなければ生存上不利になりかねないような形質も含まれている。こうした「複合形質の進化」が従来の漸進進化的なモデルのみで説明できるのか、あるいは同時進化を促進するような未知のメカニズムが存在するのかは、進化生物学上に残された大きな謎である。こうした問題にアプローチするには、擬態の分子メカニズムの全容解明が必要不可欠である。我々はこれまでに、実験室内におけるランカマキリの飼育・繁殖系のセットアップに成功した。さらに、ランカマキリ特有のピンク色の体色を形成する分子メカニズムを明らかにするために、HPLC および質量分析計を用いた体色素の生化学的解析を行った。その結果、ピンク色の色素の正体はオモクローム色素ファミリーに属するキサントマチンであることを明らかにした。しかしながら、キサントマチンは昆虫種において広範に利用されている色素化合物であり、この「ありふれた」色素がどのようにランカマキリ特有の体色を形成しているのかは、未解明の謎として残されていた。



図1  
ランカマキリの  
メス終齢幼虫

## 2. 研究の目的

本研究では、キサントマチンおよびその関連色素分子の生化学的および細胞学的な解析を通して、ランカマキリ特有のピンクの体色を形成する「真の」種特異的メカニズムを解明することを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) ランカマキリ 1 齢幼虫と後期幼虫との比較による体色生成メカニズムの解析

ランカマキリの 1 齢幼虫は、一部のカメムシ幼虫に似た赤と黒を基調とした体色を持つ。これが最初の脱皮を境にして、白と赤を基調とした、花に似た 2 齢幼虫へと変化し、この花に類似した外見は終齢幼虫まで保持される。これまでに申請者は、キサントマチンがピンクの後期幼虫のみでなく、1 齢幼虫の赤色部位にも利用されていることを明らかにした。しかし、1 齢幼虫の赤色部分は黄色味がかった赤色であるのに対して、2 齢幼虫以降のそれは赤紫色であり、両者の色調には明瞭な違いが存在する (図 2)。これに関して我々は、1 齢幼虫は通常型のキサントマチンの他に、分子上のカルボキシル基が 1 つ脱離した「脱炭酸型」のキサントマチンを含むことを見出した。さらに、1 齢幼虫の体内には非常に不安定な「第 3 の色素」が存在することが明らかになったが、従来の手法を用いた解析では抽出から HPLC による分析の間に急速に分子の分解が起こり、その分子実体の同定および定量的な解析が困難であった。本研究では、この不安定な分子を安定的に抽出・分析できる方法を確認し、これらの色素群の組成が特異的な体色生成に果たす役割を明らかにすることを目指した。



図2 ランカマキリの 1 齢幼虫 (左) と 2 齢幼虫 (右)

### (2) ランカマキリと褐色型カマキリの比較による体色生成メカニズムの解析

キサントマチンは分子の酸化還元状態によって色が変わることが知られている (酸化型: 黄、還元型: 赤)。キサントマチンはピンクのランカマキリのみでなく褐色のオオカマキリの体内にも多量に存在しており、こうした体色の違いを生み出す原因として、「褐色のカマキリにおいてはキサントマチンが酸化型で存在する」可能性が考えられる。これを明らかにすべく、本研究ではカマキリの外皮組織を酸化剤および還元剤で処理する実験により、生体内におけるキサントマチン色素群の酸化還元状態を解析した。

### (3) 組織学的アプローチによるランカマキリ体内のキサントマチン凝集体の検出

これまでの研究により我々は、ピンク色をしたランカマキリ体表の吸収スペクトルは 534 nm 付近に吸収極大を持つことを見出した。これは中性バッファー中における酸化型および還元型キサントマチンの吸収スペクトル（吸収極大波長はそれぞれ 440 nm と 495 nm）とは大きく異なる一方、還元型キサントマチンの凝集体の懸濁液の吸収スペクトル（吸収極大波長:533 nm）とは非常によく一致した（図 3）。これらの結果から、ランカマキリのピンクの体色は還元型キサントマチンが凝集体として存在することにより形成されると推測されたが、実際に生体内にそのような凝集体が存在するのか、また存在する場合には組織・細胞内のどこにどのような形で存在しているのかは不明であった。そこで本研究では、光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡を用いた観察によりキサントマチンを含む色素顆粒の形状を解析し、これらの疑問の解明を試みた。

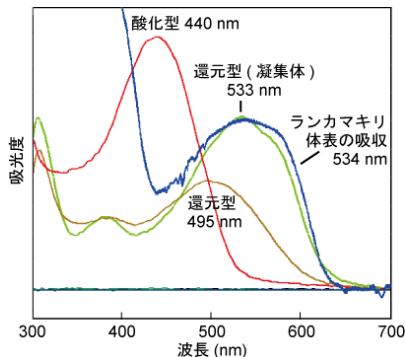


図 3 キサントマチン（酸化型・還元型・凝集体）の吸収スペクトルとランカマキリ体表の吸収スペクトル

#### 4. 研究成果

##### (1) ランカマキリ 1 齢幼虫と後期幼虫との比較による体色生成メカニズムの解析

1 齢幼虫体内に存在する不安定な色素に対して、HPLC による単離および質量分析装置による分子量決定を行った結果、この色素はキサントマチンとその前駆体である 3-ヒドロキシキヌレニンの間に位置する反応中間体であることが予想された。色素の化学合成実験によりこの予想は裏付けられ、当該分子がキサントマチンの直近の前駆体であることからこの色素を「プレキサントマチン」と命名した（図 4）。吸収スペクトルの測定により、プレキサントマチンは 441 nm に吸収極大を持つ黄色色素であると判明した。また、プレキサントマチンはキサントマチンなど他の一般的なオモクローム色素とは異なり、酸化還元による色の変化を示さないことが明らかになった。プレキサントマチンは組織からの抽出後に急速に分解してしまうが、抽出に用いる有機溶媒の検討および水中でカ

ラムを冷やしながらか HPLC 分析を行う等の工夫により、その定量的な解析を可能にした。その結果、ピンクの体色を持つランカマキリ終齢幼虫においては通常型キサントマチンがほとんど全ての割合を占めるのに対し、1 齢幼虫では通常型・脱炭酸型・プレキサントマチンの 3 つの色素が混在していることが明らかになった。以上の結果により、ランカマキリの 1 齢幼虫の黄色味がかかった赤色は、赤色の還元型キサントマチン・脱炭酸型キサントマチンと、還元的条件下でも黄色を示すプレキサントマチンの混在により形成されることが示された。すなわち、従来は 1 種類の分子であると考えられていたキサントマチン分子には実は 3 種類の類縁分子があり、これらの組成の違いが体色の多様性に寄与することが今回の研究により明らかとなった。

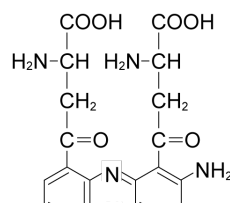


図 4 プレキサントマチンの構造

##### (2) ランカマキリと褐色型カマキリの比較による体色生成メカニズムの解析

カマキリの外皮組織を酸化剤および還元剤で処理する実験により、キサントマチン色素群の酸化還元状態を解析した。その結果、褐色型の国内産カマキリ（オオカマキリ・コカマキリ・ハラビロカマキリ）においては色素が主に酸化型で存在するのに対し、ランカマキリにおいては還元型で存在することが明らかになった。以上の結果により、キサントマチン色素の酸化還元状態の違いが、ランカマキリの特異的な体色形成に重要な役割を果たすことが示唆された。

##### (3) 組織学的アプローチによるランカマキリ体内のキサントマチン凝集体の検出

光学顕微鏡を用いた観察により、ピンク色の体色を持つランカマキリのメス終齢幼虫においては、キサントマチン色素が大きいもので幅 1-2 マイクロメートル程度の大きさを持つ、やや不規則な形状の顆粒として存在することが確認された。この顆粒に対して透過型電子顕微鏡を用いた観察を行った結果、その内部には電子密度の高い、直径 60 ナノメートル程度の微小顆粒が数多く存在していることが確認された（図 5）。一方、同様の構造物は白～薄黄色の体色を持つランカマキリのメス成虫では検出されなかった。以上の結果により、ピンク色のランカマキリにおいては、色素顆粒内に特殊な細胞内構造が存在することが明らかになった。この微小顆粒の実体としては、顆粒サイズによる類推から超

低比重リポ蛋白質（VLDL）のようなりポ蛋白質複合体の可能性が考えられ、その内部にキサントマチンが不溶性の凝集体として存在することによってランカマキリ特有の体色が形成されている可能性が示唆された。

研究の今後の展開としては、異なる体色を示すランカマキリの1齢幼虫と後期幼虫との間における色素顆粒の形状比較、および発現遺伝子の網羅的比較を行うことにより、この微小顆粒が本当にリポ蛋白質複合体であるかどうかの検証、およびその構成タンパク質の分子実体の同定が行えると考えられる。本研究成果は、体色生成において同一の色素分子から異なる体色を作り出す全く新しい分子メカニズムを明らかにするとともに、その進化過程の解明へ向けた遺伝子レベルでの解析へと道を拓くものであり、研究目的に沿った非常に大きな進展である。

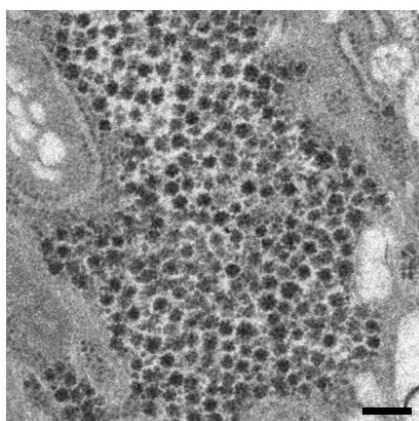


図5 ランカマキリ終齢幼虫体内に存在する微小顆粒の透過型電子顕微鏡像（スケールバー：200 nm）

#### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計1件）

Futahashi R, Kurita R, Mano H, Fukatsu T. (2012)  
Redox alters yellow dragonflies into red.  
Proc Natl Acad Sci USA 109, 12626-12631.  
DOI: 10.1073/pnas.1207114109  
査読有

〔学会発表〕（計3件）

真野弘明・長谷部光泰  
ランカマキリのピンクの体色を構成する色素の同定と生化学的解析  
日本動物学会 第84回大会 招待講演  
2013年9月26日  
岡山県岡山市 岡山大学 津島キャンパス

真野弘明・長谷部光泰  
ランカマキリの体色を構成する色素キサ

トマチンの同定と生化学的解析  
昆虫DNA研究会 第9回研究集会  
2012年5月19日  
愛知県岡崎市 岡崎コンファレンスセンター

真野弘明・長谷部光泰  
ランカマキリの体色を構成するキサントマチン色素群の解析  
2012年3月28日  
第56回日本応用動物昆虫学会大会 招待講演  
奈良県奈良市 近畿大学 奈良キャンパス

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕  
出願状況（計0件）

取得状況（計0件）

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

真野 弘明 (Mano, Hiroaki)  
基礎生物学研究所・生物進化研究部門・  
研究員  
研究者番号：80376558