


 解説

## 脂質の相転移を利用した昆虫の越冬

片桐千仞

(受取日：2005年11月25日，受理日：2006年1月9日)

## Phase Transition of Lipids in Overwintering Insects

Chihiro Katagiri

(Received November 25, 2005; Accepted January 9, 2006)

Lipid is one of the major components in organisms; that is, triacylglycerols and phospholipids are known as an energy source and the major constituent of the membrane, respectively. Their transition between liquid and solid occurs often under the biological environments. Insects are ectotherm of tropical origin. They, however, flourish everywhere on the earth except ocean. We have investigated how they can survive during the cold winter. Insects sometimes avoid and sometimes utilise the thermal transition of the lipids above and hydrocarbons that cover the body surface against dehydration.

## 1. はじめに

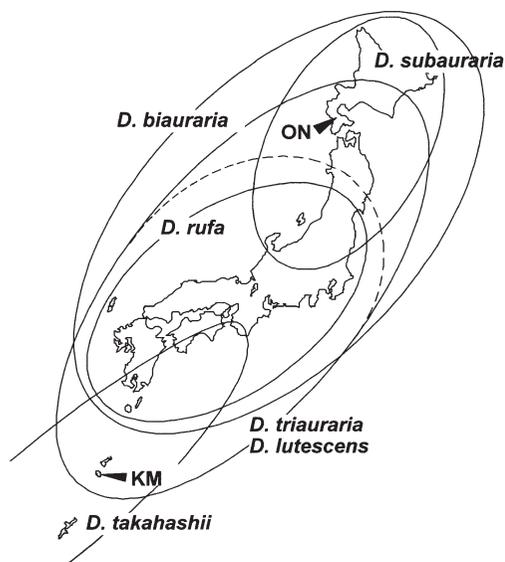
先日、物理の教科書を開いたら、熱力学第1法則の章の冒頭にオオスズメバチを取り囲むニホンミツバチのカラー写真が出ていた。おまけにその現象についての例題まである。<sup>1)</sup>「熱力学」と「昆虫」、まったく縁がなさそうだけれど、物理の教科書に昆虫がとりあげられることもあるのだとうれしくなった。

昆虫が好きか嫌いかは別にして、昆虫を見たことのない人はいないだろう。弱虫、泣き虫、研究の虫、五月蠅い…虫にまつわる表現やことわざが多いことから、いかに私たちの生活と密接にかかわっているかがわかる。ある時、インドネシア出身の学生にインドネシアでは虫に関連したどんな表現があるのか質問したことがある。昆虫は熱帯が起源であり虫の数も多いから、たくさん知っているに違いないという期待に反して、「思いつかない」という答だった。日本では四季の移り変わりに応じて虫の種や数がかかるけれど、インドネシアではあまりにも身近にたくさんの虫があるので関心がわかないのかもしれない。

地球上の昆虫の総数を数えることはとてもできないが、ヒト1人にたいして3億匹もいると推定している人がいる。100万種以上の種数を誇り、大洋をのぞく地球上のあらゆる地域、気候帯に繁栄する昆虫だが変温動物である。したがって、昆虫がこのように生存圏を広げることができた要因のひとつは四季の変化とりわけ冬の低温に耐えられたからである。本稿では昆虫がどのように越冬しているかについて、脂質の相転移に着目して行ってきた私たちの研究を紹介したい。

## 2. 昆虫の越冬

熱帯から冬の間低温に曝される地域に進出した昆虫であっても、一年を通して低温に強いわけではない。かれらは生活史を発育期と休眠期にわけ、熱帯に近い温度環境の夏の時期に貪食し脱皮を繰り返して大きくなるが、低温に弱い。ところが休眠期にはいると、エネルギー代謝のレベルは下がり、低温に強くなる。かえって、温度が高いと死んだり、発育がばらついてしまう。かれらにとって、越冬は再び発育期に戻るための必要条件であり、低温を必ずしも



**Fig.1** The distribution ranges of the experimental species in Japan. ON; Onuma, KM; Kametoku.

不利な環境条件としていない。このように進化の過程で昆虫は休眠を適応プログラムとして獲得しており、冬を生活史（生物の一生）の中に積極的に組み込んでいる。<sup>2)</sup>

本稿では、昆虫の越冬と密接に関係しているトリアシルグリセロール、リン脂質、炭化水素の3種類の脂質を取り上げる。トリアシルグリセロールは越冬期の基礎代謝のエネルギー源であり、リン脂質は細胞膜の主要な構成員で低温耐性と密接に関係している。また、炭化水素は昆虫の体表を覆って乾燥から身をまもっている。

### 3. エネルギー源としてのトリアシルグリセロール<sup>3)</sup>

休眠に入って越冬する昆虫にも基礎代謝のエネルギーは不可欠である。休眠中は飲まず食わずなので、あらかじめエネルギーを貯えておかなければならない。グリコーゲンや糖、糖アルコールを貯える昆虫もいるが、脂肪を貯えるものも多い。

私たちが実験に用いた昆虫は越冬のためのエネルギーとしてトリアシルグリセロールを貯えるショウジョウバエである。遺伝や分子生物学の分野の研究に広く用いられているキロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) 种群の近縁で、かつ、分布域の異なる6種である (Fig.1)。そのうち冷温帯種の3種 (キタカオジロショウジョウバエ *Drosophila subauraria*, ヤマカオジロショウジョウバエ *D. biauraria*, ノハラカオジロショウジョウバエ *D. triauraria*)、暖温帯種2種 (ムナスジショウジョウバエ *D. rufa*, キハダショウジョウバエ *D. lutescens*)、亜熱帯種

**Table 1** Reproductive conditions of females and percentages of unsaturated fatty acids in triacylglycerols.

Species	Reproductive conditions (R,D)* and unsaturated fatty acids in triacylglycerols			
	LD* / %	SD* / %	Outdoor / %	
The <i>montium</i> species subgroup				
<i>D. subauraria</i>	♂	59	69	71
	♀ R	62	D 70	D 71
<i>D. biauraria</i>	♂	56	71	nd*
	♀ R	65	D 72	nd
<i>D. triauraria</i> ON	♂	59	71	71
	♀ R	65	D 72	D 72
<i>D. triauraria</i> KM	♂	52	53	65
	♀ R	55	R 57	** 66
<i>D. rufa</i>	♂	61	63	69
	♀ R	58	R 63	D 69
The <i>takahashii</i> species subgroup				
<i>D. lutescens</i>	♂	49	47	65
	♀ R	47	R 49	D 65
<i>D. takahashii</i>	♂	40	43	48
	♀ R	40	R 39	R 49

\* R, reproducing; D, diapausing; LD, long-daylength; SD, short-daylength; nd, not determined.

\*\* Females had small ovaries, probably due to retardation of the ovarian development at low temperature in late autumn.

(タカハシショウジョウバエ *D. takahashii*) である。冷温帯種のうち *D. triauraria* については採集地の異なる2系統—冷温帯域のON系統 (北海道大沼) と亜熱帯域のKM系統 (徳之島亀徳)—について調べることができた。長日 (15℃, 15時間明期, 9時間暗期), 短日 (15℃, 10時間明期, 14時間暗期) 条件, それに札幌での屋外飼育の下で休眠に入るかどうかを **Table 1** に示した。長日条件で飼育するとどのショウジョウバエも発育期の状態を保つが, 短日条件では冬へのシグナルとなり, 冷温帯種の成虫は休眠に入った。屋外飼育でも秋になると成虫で休眠に入った。ただ, *D. triauraria* KM系統だけは, 亜熱帯域に生息するようになったために, 休眠する能力を失っていた。暖温帯種は秋の屋外飼育では休眠に入ったが, この短日条件では休眠に入らなかった。亜熱帯種は休眠に入らない。

屋外では, 雪でおおわれた地表近くのほぼ0℃の一定温度の下でショウジョウバエは越冬する。発育期に脂肪体に貯えたトリアシルグリセロールが氷点付近でも液状に保たれていなければ, 越冬中にエネルギー源として利用できない。固体ではリパーゼが消化できないからである。トリアシルグリセロールの融点は3本の構成脂肪酸に占める不飽和脂肪酸の割合に大きく影響される。

〈トリアシルグリセロールの脂肪酸組成 — 不飽和脂肪酸の割合を増して越冬に備える〉

そこでトリアシルグリセロールをショウジョウバエから抽出し、その構成脂肪酸の組成を分析した。その結果、寒冷地に適応した種ほど、また、休眠に入った個体ほど不飽和脂肪酸の割合が高い傾向が見られた (Table 1)。

さらに、近縁であっても種が違えば (*D. lutescens* と *D. takahashii*)、また、同じ種であっても系統が違う (*D. triauraria* の ON 系統と KM 系統) と生息域が寒冷地の方が不飽和脂肪酸の割合は高かった。こうして、越冬の間、トリアシルグリセロールの凝固を避けているのだろう。そこで、それぞれのショウジョウバエのトリアシルグリセロールの示差走査熱量測定 (DSC) を行った。

〈トリアシルグリセロール混合系の DSC — 不飽和脂肪酸の割合が同じでも熱挙動が同じとは限らない〉

Fig.2 は、それぞれの雌のショウジョウバエから抽出したトリアシルグリセロールの DSC 昇温曲線である。Fig.2 a-n に示したトラフショウジョウバエ (*montium*) 種亜群と o-r の *takahashii* 種亜群とでは昇温曲線に明瞭な違いがある。さらに休眠に入った *montium* 種亜群 (Fig.2 b,c,e,g,h,n) では、低温側のするどいピークのほかに、もう一つの幅の広いピークがみられ、氷点付近でほとんどのトリアシルグリセロールは凝固していないことがわかる。一方、*takahashii* 種亜群では氷点まで昇温しても半分以上が凝固したままである。

ショウジョウバエ体内にあるときも、抽出されたトリアシルグリセロールと同様に凝固 (結晶化) することを高エネルギー研・放射光研究施設 (Photon Factory) で確かめたのが Fig.3 である。休眠している *D. triauraria* ON 系統の 1 匹の腹部に X 線を照射したところトリアシルグリセロール結晶からの Bragg 反射が観察された。<sup>4)</sup>

ところで、冷温帯種の亜熱帯系統 *D. triauraria* KM 系統と暖温帯種の *D. lutescens* のトリアシルグリセロールはどちらも札幌の屋外で飼育すると不飽和脂肪酸の割合は 65% に達していた (Table 1) が、その DSC 昇温曲線を見ると前者は氷点で全体の 80% が融けているが、後者は 50% 近くがまだ凝固している (Fig.2 k,p)。不飽和脂肪酸の割合以外になが脂質の固体・液体を決めるのであろうか。

ここで問題にしているショウジョウバエのトリアシルグリセロールはさまざまな分子の混合物であることを思い出していただきたい。混合物の不飽和度が同じであっても、分子種組成までが同じとはいえないのである。たとえば、構成脂肪酸がオレイン酸 (C18:1, O と略す) とステアリン酸 (C18:0, S と略す) の 2 種類のみで構成されている単純なトリアシルグリセロール混合系を考えてみよう。O:S = 2:1 で存在していると仮定すると全体の不飽和度は 66.7%

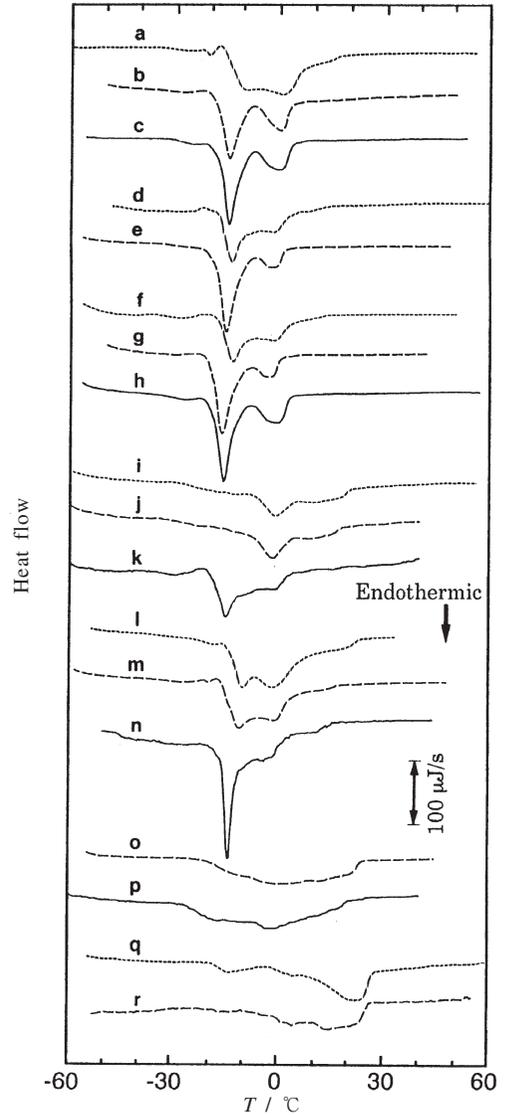
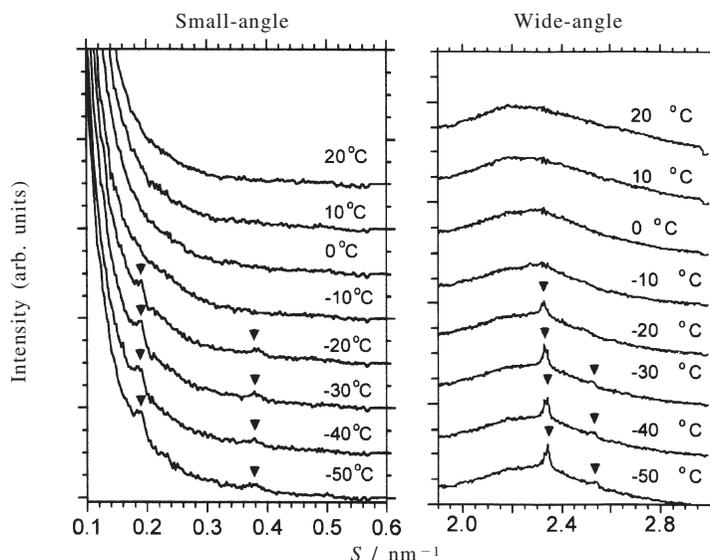


Fig.2 DSC heating curves for TGs extracted from female flies. a-d, *D. subauraria*; d and e, *D. biauraria*; f-h, ON strain of *D. triauraria*; i-k, KM strain of *D. triauraria*; l-n, *D. rufa*; o and p, *D. lutescens*; q and r, *D. takahashii*. Dotted, dashed and solid curves indicate the curves of TGs from flies reared under long-, short-daylength and outdoors, respectively. The program rate was set at 1°C min<sup>-1</sup>.

で一定であるが、実際の混合系の中にどのような分子種がどのような割合で存在するかはわからない。それは、トリステアリルグリセロール (SSS) とトリオレイルグリセロール (OOO) の混合比が 1:2 の混合系の不飽和度も 66.7%



**Fig.3** Direct observation of crystallization of triacylglycerol in a *Drosophila* fly body by small- and wide-angle X-ray scattering. Arrowheads indicate the Bragg diffraction peaks from TG crystallized in fat cells in the fly body. The temperature at which each pattern was recorded is indicated on the right side of each pattern.

%であり、1,2-ジオレオイル-3-ステアロイル-グリセロール (OOS) と1,3-ジオレオイル-2-ステアロイル-グリセロール (OSO) の任意の混合比の混合系も66.7%の不飽和度を満足しているからである。そこで、それぞれのショウジョウバエについてトリアシルグリセロール分子種の組成を調べることにした。

トリアシルグリセロール混合系の熱挙動は分子種組成の影響を受ける - 越冬に成功するショウジョウバエは飽和トリアシルグリセロール分子種を極力減らしている

ショウジョウバエから抽出したトリアシルグリセロールを更にその二重結合数の違いによって分け、それぞれの組成を比較した (Table 2)。ここではトリアシルグリセロール分子中の二重結合の数によって、二重結合0 (TG<sub>0</sub>) から1 (TG<sub>1</sub>)、2 (TG<sub>2</sub>)、3 (TG<sub>3</sub>)、4以上 (TG<sub>>3</sub>) の5クラスに分けてある。montium種亜群ではTG<sub>2</sub>が多く、takahashii種亜群ではTG<sub>1</sub>が多い。休眠に入ったショウジョウバエではTG<sub>2</sub>、TG<sub>3</sub>が増加しTG<sub>0</sub>、TG<sub>1</sub>が減少するが、この傾向は、より低温に適応した種にも見られ、Table 1で見た不飽和脂肪酸の増加の結果と考えられる。けれども、montium種亜群の場合TG<sub>0</sub>とTG<sub>1</sub>の低比率は不飽和脂肪酸の増加だけでは説明できない。つまり、TG<sub>0</sub>の割合が、トリアシルグリセロールに脂肪酸がランダムに分配されると仮定したときにTable 1の飽和脂肪酸の割合から次式によって推測される値より小さいのである。

$$\text{TG}_0 \text{の推測値} = (\text{飽和脂肪酸の割合}(\%) / 100)^3$$

takahashii種亜群では測定値と推測値に大きな違いがないこと、montium種亜群では休眠・非休眠にかかわらず測定値が推測値より低い (冷温帯種で推定値の1/10ないし1/3、暖温帯種でも1/3ないし2/3) ことから、montium種亜群では、TG<sub>0</sub>の合成を積極的におさえる機構が存在していると考えられる。したがって、トリアシルグリセロール混合系の凝固点はその構成脂肪酸中の不飽和脂肪酸の割合によって一義的に決まらず、二重結合数の異なる分子種がどのような比率で存在するかによって大きく影響する (Table 2)。混合系全体としては同じ不飽和度であっても、TG<sub>0</sub>を少なくする、つまり、各トリアシルグリセロール分子にできるだけ二重結合をまんべんなく振り分けることで、凝固点を下げることができるのである。

トリアシルグリセロール分子種の再構成と熱挙動 - 分子種の組成を変えれば亜熱帯種も越冬できる

ここでもう一度、全体の不飽和度が同じ*D. triauraria* KM系統と*D. lutescens*のトリアシルグリセロール混合系について分子種組成を見ていただきたい。KM系統はTG<sub>0</sub>が少なくTG<sub>2</sub>が多いのが特徴である (Table 2)。分子種組成の違いによってトリアシルグリセロール混合系の凝固点が違うのであれば、*D. triauraria* KM系統と*D. lutescens*それぞれの混合系の組成を入れ替えるとどうなるだろう。そこで両者を二重結合数に応じた分子種に分け、前者の分

**Table 2** Triacylglycerol classes in terms of the number of double bonds in the fatty acids chains. Triacylglycerols were classified into saturated (TG<sub>0</sub>), unsaturated with one (TG<sub>1</sub>), two (TG<sub>2</sub>), three (TG<sub>3</sub>), and more than three (TG<sub>>3</sub>) double bonds. Expected % of TG<sub>0</sub> were calculated on the basis of fatty acid compositions in Table 1.

Species and rearing conditions	Expected % of TG <sub>0</sub>	% of TG classes					Species and rearing conditions	Expected % of TG <sub>0</sub>	% of TG classes					
		TG <sub>0</sub>	TG <sub>1</sub>	TG <sub>2</sub>	TG <sub>3</sub>	TG <sub>&gt;3</sub>			TG <sub>0</sub>	TG <sub>1</sub>	TG <sub>2</sub>	TG <sub>3</sub>	TG <sub>&gt;3</sub>	
<i>D. subauraria</i>							<i>D. rufa</i>							
LD*	♂	6.9	1.7	34.6	47.4	15.1	1.2	♂	5.8	3.5	34.3	46.1	15.6	0.5
	♀	5.5	1.7	28.6	49.2	19.4	1.1	♀	7.3	3.9	35.5	42.8	15.9	2.0
SD*	♂	3.1	0.6	19.8	54.8	24.3	0.6	♂	4.9	1.6	30.4	47.7	18.7	1.6
	♀	2.6	0.7	19.3	54.0	25.3	0.5	♀	5.2	2.0	31.0	47.2	18.2	1.6
Outdoor	♂	2.5	0.7	17.3	54.0	27.5	0.6	♂	3.0	1.3	24.4	48.5	24.1	1.7
	♀	2.5	0.4	17.1	54.1	27.9	0.5	♀	2.9	1.9	23.4	47.8	25.6	1.3
<i>D. biauraria</i>							<i>D. lutescens</i>							
LD	♂	8.8	1.8	39.9	44.7	12.4	1.3	♂	13.2	17.2	40.9	28.4	11.0	2.4
	♀	4.3	1.1	25.0	48.5	23.3	2.2	♀	15.1	18.7	34.7	30.5	12.6	3.5
SD	♂	2.6	0.4	18.2	48.4	31.0	2.1	♂	14.7	12.3	46.1	31.5	7.9	2.2
	♀	2.2	0.2	16.3	49.1	32.5	1.9	♀	13.3	12.8	41.5	31.5	9.7	4.5
<i>D. triauraria</i> ON							Outdoor							
LD	♂	7.0	1.6	35.8	45.4	14.8	2.3	♂	6.5	6.0	34.3	36.6	20.6	2.5
	♀	4.2	1.1	25.5	47.9	21.9	3.7	♀	5.3	6.6	32.1	34.8	20.5	6.0
SD	♂	2.5	0.5	19.4	51.3	27.8	1.1	<i>D. takahashii</i>						
	♀	2.3	0.5	18.2	49.3	31.0	1.1	LD	♂	21.5	27.2	41.9	23.7	6.3
Outdoor	♂	2.4	0.5	17.7	53.3	27.8	0.7	♀	21.2	25.0	38.9	26.3	8.5	1.4
	♀	2.3	0.4	17.5	52.8	29.4	0.5	SD	♂	18.8	22.7	41.8	24.6	9.8
<i>D. triauraria</i> KM							Outdoor							
LD	♂	11.4	3.3	46.2	38.6	10.1	1.9	♂	15.9	19.1	38.3	30.1	11.1	1.5
	♀	9.2	3.0	39.7	41.7	13.4	2.2	♀	13.6	16.1	37.5	32.8	11.8	1.8
SD	♂	10.5	2.7	45.8	40.1	9.9	1.5							
	♀	8.0	3.4	36.5	42.9	14.6	2.5							
Outdoor	♂	4.4	1.5	30.0	49.0	18.0	1.5							
	♀	4.0	1.2	26.8	50.8	20.3	0.9							

\* LD, long-daylength; SD, short-daylength.

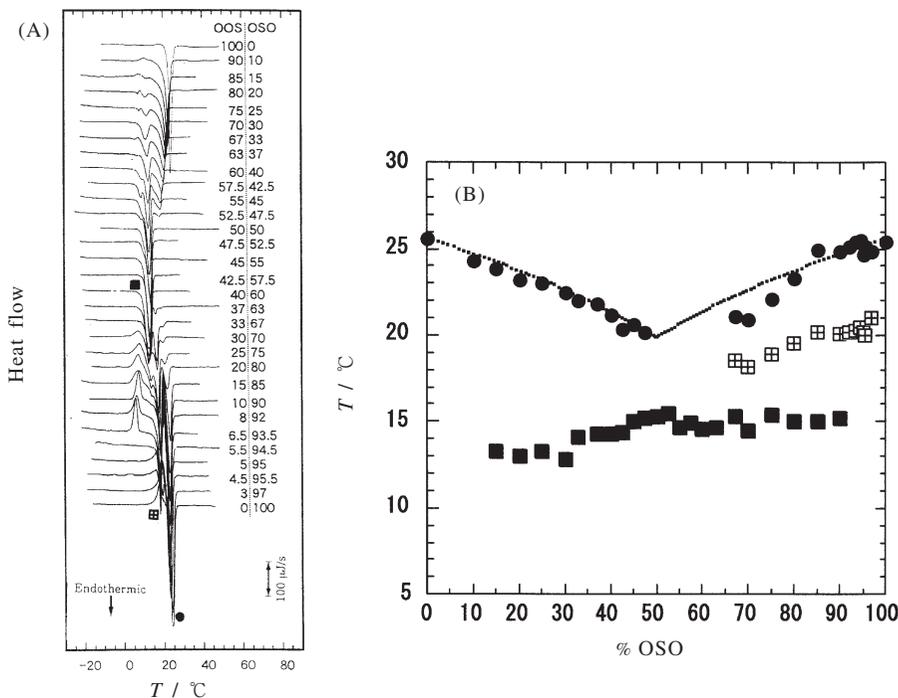
子種組成を後者の組成に再構成しDSC測定を行ったところ、後者の越冬できないタイプのトリアシルグリセロール混合系に非常によく似た熱挙動を示した (Fig.2 s 参照)。つまり、氷点でも凝固しなかった*D. triauraria* KM 系統のトリアシルグリセロール (Fig.2 k) は、その不飽和度によってではなく分子種の組成によってその熱挙動が決められていたのである。その逆、氷点で凝固した*D. lutescens*のトリアシルグリセロール (Fig.2 p) はその分子種組成を*D. triauraria* KM 系統のそれに再構成すると氷点でも凝固しなくなった (Fig.2 t 参照)。トリアシルグリセロール混合系の熱挙動には構成脂肪酸の不飽和度だけでなく、分子種組成も大きく影響するという私たちの考えの正しいことがこの組成の再構成実験でも証明された。

より低温に適応した冷温帯種はTG<sub>0</sub>の割合を積極的に減少させており、全体の不飽和脂肪酸の割合から推測されるよりもさらに凝固点を下げることに成功し、氷点付近での

凝固を回避していた。一方、低温に適応していない種は不飽和度を高めることはできてもTG<sub>0</sub>を減少させる機構を欠いていたのである。

トリアシルグリセロール2種の混合によって融点が低下する組合せと低下しない組合せ)

さきほどの再構成実験の際に二重結合数の違いによって分けられた5クラスのトリアシルグリセロール分子種-TG<sub>0</sub>, TG<sub>1</sub>, TG<sub>2</sub>, TG<sub>3</sub>, TG<sub>>3</sub>-の昇温曲線を比較すると、融解開始と終了の温度は同じ二重結合数の分子種クラスならば*D. lutescens*と*D. triauraria* KM 系統の間に大きな違いは見られなかった。そこで対応する二重結合数を持つ市販の標品との比較を試みたところ、5クラスすべてにおいて、市販の単一標品の昇温曲線はショウジョウバエから得られたトリアシルグリセロール分子種の昇温曲線から大きく高温側にずれていた (図省略)。融解開始と終了の温度とも単一標品のほうが、より高いのである。この熱挙動も混合の効



**Fig.4** DSC heating curves for TG<sub>2</sub>-stereo-isomer mixtures (A) and phase diagram of OOS/OSO mixtures (B). *sn*-1,2-dioleoyl-3-stearoylglycerol (OOS) and *sn*-1,3-dioleoyl-2-stearoylglycerol (OSO) are mixed. The program rate was set at 1°C min<sup>-1</sup>. Symbols in the left panel indicate the series of the transition peaks and correspond to those in the phase diagram.

果なのであろうか。そこで、市販の標品を2種混合すれば融点が変わるか確かめることにした。ショウジョウバエのトリアシルグリセロールの構成脂肪酸のうちのほとんどがモノ不飽和脂肪酸なので、測定にはオレイン酸を持つトリアシルグリセロール標品を用いた。

はじめに二重結合数の異なるTG<sub>1</sub>とTG<sub>2</sub>の混合系のDSC測定を行った(図省略)。TG<sub>1</sub>(1-パルミトイル-2-オレオイル-3-ステアロイル-グリセロール, C16:0/C18:1/C18:0, POS)単独の昇温曲線はTG<sub>2</sub>(1,3-ジオレオイル-2-ステアロイル-グリセロール, C18:1/C18:0/C18:1, OSO)単独よりも融解の開始, 終了とも高い温度を示した。つぎにTG<sub>1</sub>とTG<sub>2</sub>をどのような比率で混合しても, TG<sub>1</sub>, TG<sub>2</sub>両者の中間の熱挙動しか示さなかった。二重結合数の異なる2種のトリアシルグリセロールを混合してもTG<sub>2</sub>単独の場合の融点以下には下らない。

つぎに二重結合数が同じトリアシルグリセロール2種の混合を試みた。用いたのはTG<sub>2</sub>であるOSOとその位置異性体1,2-ジオレオイル-3-ステアロイル-グリセロール(C18:1/C18:1/C18:0, OOS)である。Fig.4(A)に, OOSとOSOのそれぞれの混合比のDSC昇温曲線を示した。

OOS, OSO単独では融点(吸熱ピークの頂点と定義)が両者とも25°Cであるが, 混合すると, 融点は徐々に下がり, OOS:OSO = 45:55のときに最も融点が低下し14.6°Cを記録した。

Fig.4(B)はDSC昇温曲線の吸熱ピーク温度をOSOの比率に対してプロットしたものである。低温側の吸熱ピーク温度が組成によらずほぼ一定であることから, この吸熱ピークは共晶の融解であると思われる。また, 相図中の点線は, 固相では完全に相分離し, 融液相では理想混合しているとし, 融解エントロピーは温度に依存しないと仮定して計算した相境界の理論曲線であり, 実測した高温側のピーク温度から得られた相図とよく一致していた。

混合系によって融点が低下するものと低下しないものがあることについて考えてみたい。転移温度は系の自由エネルギーにより決定される。まず, 脂肪酸の飽和と不飽和の問題に単純化すると, 不飽和脂肪酸では立体的な障壁のために分子同士の接近が制限される。そのために結晶状態になることによって得られるファン・デル・ワールス力に由来する内部エネルギーの低下は飽和脂肪酸に比べて小さくなる。その結果, 相対的に融液状態が安定化され, 飽和脂

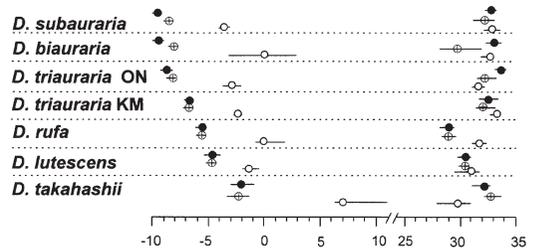
脂肪酸に比べ、不飽和脂肪酸の融点は低くなる。自由エネルギーは内部エネルギーとエントロピーに関係する項からなるので、融解時のエントロピー変化も融点温度に影響する。これをもとにして、トリアシルグリセロールについて考えると、グリセロール骨格の1, 2, 3位のどこに不飽和脂肪酸が入るかによって何種類もの分子種が可能である。したがって不飽和脂肪酸が入る位置をバラバラにして多種類の分子種を作り出せば、混合エントロピーを増加させることができ、融液状態は安定化する。ただし、混合エントロピーの増加が直ちに融点の低下に結びつくとは限らない。なぜなら、同種分子間の相互作用が異種分子間の相互作用より非常に大きく、融液状態が不安定化する場合も考えられるからである。すなわち、内部エネルギーが関係するからである。今回測定を行ったOOS/OSO混合系では、混合によって融点は顕著に低下したが、POS/OSO混合系で低下しなかったのは内部エネルギーの関与の違いではないだろうか。

寒冷地に適応したショウジョウバエでは、トリアシルグリセロールの合成の際にグリセロール骨格の1, 2, 3位のどこに不飽和脂肪酸を配置するかの制御機構が働き、エントロピーと内部エネルギーの項をうまく利用することで、越冬を可能にしているのだろうと考えている。かれらはクラウジウスやケルヴィン、ランキンが見出す以前からエントロピーの意味を理解していたことになる。

余談になるが、このショウジョウバエの「知恵」は冷凍コロッケの食感と関係している。冷凍コロッケを電子レンジで温めると、衣(ころも)のサクサク感が失われることが多い。そこで、コロッケを揚げるときにパーム油(飽和脂肪酸が多く、室温で固体の固形脂)と菜種油(不飽和脂肪酸の多い液状油)のエステル交換油(室温で流動する半固形脂)を使うとサクサク感が保たれることが経験的に分かっている。冷凍保存中にコロッケの中味に含まれる水分が衣に移行するのをブロックするには半固形脂が最適なのである。<sup>6)</sup> 寒冷地に適応したショウジョウバエのエネルギー源であるトリアシルグリセロール混合系は不飽和脂肪酸を意図的に配分したエステル配分油といえる。

#### 4. 細胞膜のリン脂質 7)

生物体を形づくる基本単位は細胞である。生命現象が営まれているのは細胞の中身である原形質であり、それを直接、細胞膜が取り囲んでいる。細胞膜の役割は原形質を外界から隔てて細胞のアイデンティティを保つだけでなく、細胞の生存・増殖に不可欠の外界との物質のやりとりを行う仲介役でもある。つまり、細胞膜は物質を選択して透過させ、細胞内外の濃度差を積極的に維持する働きも備えている。このような機能を持つ細胞膜はおもにリン脂質の二重層からできており、ところどころに酵素をはじめとする



**Fig.5** Cold- and heat-tolerance in males. ●: under a short daylength (10 h light: 14 h dark) at 15 °C, ⊕: under a long daylength (15 h light: 9 h dark) at 15 °C, ○: under continuous light at 23 °C. Symbols indicate half lethal temperature (LT<sub>50</sub>), and horizontal lines indicate LT<sub>25</sub> and LT<sub>75</sub>. Females did not so much differ from males in cold- and heat-tolerance.

生命維持に不可欠のさまざまなタンパク質が埋め込まれている。この膜のタンパク質が正常に機能するには膜の流動性が保たれていなければならない。この時、リン脂質二重層は液晶相をとっている。したがって

$$\begin{aligned} & \text{リン脂質構成脂肪酸中の二重結合数の増加} = \\ & \text{リン脂質二重層のゲル相} \rightleftharpoons \text{液晶相転移温度の低下} \quad (1) \end{aligned}$$

となり、その結果

$$\begin{aligned} & \text{低温に強い生物} = \\ & \text{細胞膜のリン脂質構成脂肪酸中の二重結合数の増加} \quad (2) \end{aligned}$$

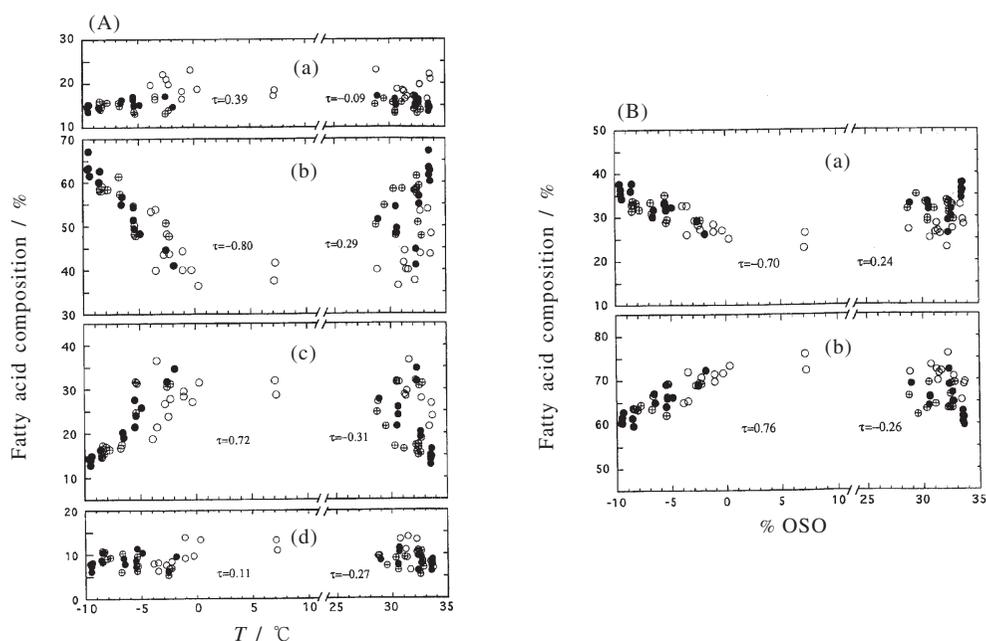
という報告がこれまで多数なされていた。

ところが、トリアシルグリセロールの研究で扱ったショウジョウバエは(2)とは異なる図式であった。越冬に入る短日条件で飼育しても不飽和脂肪酸の割合はほとんど変わらない。二重結合の数を推定すると低温耐性の強い休眠個体の方がかえって減少しているのである (Fig.5, Table 3)。(1)の関係から考えると、二重結合数の減少は冬に向かって膜の流動性を低下させ、ひいてはゲル相へ移行する危険をはらんでいるようにみえる。

ここまではリン脂質とひとまとめに議論してきたが、リン脂質はホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミンなどリン酸を持つ多数の脂質の総称であることは言うまでもない。いま、問題にしている(1)と(2)の図式はホスファチジルコリン主体の哺乳類などの細胞膜の話である。ショウジョウバエではホスファチジルコリンが細胞膜に占める割合はせいぜい30%にすぎず、ホスファチジルエタノールアミンが主要リン脂質なのである。このようなホスファチジルエタノールアミン主体の細胞膜の研究は少なく、人工膜について調べられていただけであった。その知見に

**Table 3** The percentage of unsaturated fatty acids (%UFA) and the number of double bonds (NDB) in the phospholipids of males. short daylength; 10 h light-14 h dark at 15 °C, long daylength; 15 h light-9 h dark at 15 °C, continuous light at 23 °C. The same results were obtained with females. nd, not determined.

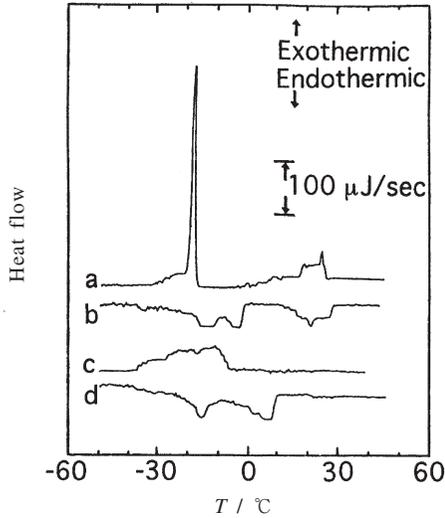
Species	short daylength		long daylength		continuous light	
	%UFA (%)	NDB	%UFA (%)	NDB	%UFA (%)	NDB
<i>D. subauraria</i>	86.3	111.6	84.8	122.4	83.6	121.5
<i>D. bauraria</i>	84.8	116.2	84.4	119.6	nd	nd
<i>D. triauraria</i> ON	85.4	119.4	86.0	124.7	78.0	120.1
<i>D. triauraria</i> KM	84.5	123.2	85.2	123.3	80.2	125.1
<i>D. rufa</i>	87.9	133.0	84.8	128.9	76.9	123.5
<i>D. lutescens</i>	84.8	131.7	86.8	133.3	81.4	139.9
<i>D. takahashii</i>	85.4	139.3	86.2	131.5	82.8	141.4



**Fig. 6** Relationships between  $LT_{50}$  of flies and compositions of the fatty acids of their phospholipids in terms of the number of the double bonds (A) and relationships between  $LT_{50}$  of flies and the carbon chain length of their phospholipid fatty acids (B). In the left panel, (a) saturated fatty acids, (b) monoenoic acid, (c) dienoic acid, (d) trienoic acid. In the right panel, (a) C16-FA, (b) C18-FA. ●: under a short daylength (10 h light: 14 h dark) at 15 °C, ⊕: under a long daylength (15 h light: 9 h dark) at 15 °C, ○: under continuous light at 23 °C.  $\tau$ : Kendall's rank correlation.

よれば、ホスファチジルコリン主体の人工膜と決定的に異なる点は低温から温度を上昇させるにともないゲル相、液晶相そしてヘキサゴナルII相をとることである。したがって、リン脂質構成脂肪酸の二重結合数をいわずらに増加させてしまうと液晶相↔ヘキサゴナルII相転移温度が低温側にシフトし、その結果容易にヘキサゴナルII相に移行し二重層である膜構造を失ってしまう。ショウジョウバエの脂肪酸の分析結果をさらに検討すると、低温耐性の上昇と

もに、二重結合を2個もつ2価不飽和脂肪酸は減少し、二重結合を1個もつ1価不飽和脂肪酸の増加が見られた (Fig.6(A))。また、同時に脂肪酸の炭素鎖長が18から16に短くなることも認められた (Fig.6(B))。この二重結合数と鎖長の変化はショウジョウバエの生息環境温度下でホスファチジルエタノールアミン主体の人工膜が液晶相をとるための条件を満足している。さらに、このような脂肪酸組成の変化は、ショウジョウバエの低温耐性を高めるだけでな



**Fig.7** DSC profiles for cuticular hydrocarbons of *D. triauraria* ON diapausing and non-diapausing adults. The hydrocarbons extracted from non-diapausing (a,b) and diapausing (c,d) were subjected to DSC. a,c:cooling curves, b,d:heating curves. The temperature program was  $+40^{\circ}\text{C} \rightarrow -50^{\circ}\text{C} \rightarrow -40^{\circ}\text{C}$ . The program rate was set at  $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

く高温耐性の維持にも貢献していたのである。

### 5. 乾燥耐性と炭化水素

昆虫の寒冷適応を論じる際に寒さだけでなく乾燥からの回避も考慮しなければならない。そこで冷温帯種 *D. triauraria* ON 系統の休眠成虫と非休眠成虫の体表を覆う炭化水素に着目した。休眠・非休眠成虫とも炭化水素が体重に占める割合は0.1~0.5%と差がなかったが、組成は炭素鎖長も二重結合数も全く異なるものであった。非休眠成虫の炭化水素の鎖長は22~24であり飽和炭化水素 $\text{HC}_0$ が28%, 1不飽和炭化水素 $\text{HC}_1$ が66%, 2不飽和炭化水素 $\text{HC}_2$ が6%であるのに対し、休眠成虫では鎖長が27~36と伸び、 $\text{HC}_0$ と $\text{HC}_1$ がともに22%と減少し、 $\text{HC}_2$ は46%と増加していた。これまで見てきたトリアシルグリセロールやリン脂質に関しては、寒さ対策に費やすエネルギーを最小にして最大の効果を上げる機構を持つものだけが寒冷地に適応することができた。ところが、体表の炭化水素については、その組成を全面的に変えてしまっている。対策に費やすエネルギーのことなど考えずとにかく乾燥から身をまもらなくてはいけないのであろう。

非休眠成虫の炭化水素の降温曲線を見るとショウジョウ

バエが越冬する氷点付近ではすでに一部凝固しているが、休眠成虫ではこの降温条件下では全く凝固せず、 $-5^{\circ}\text{C}$ を過ぎてから凝固が始まっている (Fig.7 a,c)。昇温曲線を比較しても非休眠成虫では、氷温を境にして相分離を起こしている (Fig.7 b,d)。非休眠成虫の体表の炭化水素では越冬条件下で乾燥回避の役割を十分果たすことはできないのであろう。

けれども、全ての昆虫が低温対策に体表の不飽和炭化水素の割合を増やしているわけではない。モンシロチョウとオオモンシロチョウは近縁であり、両者とも蛹で休眠し、寒さに強い。体表の炭化水素の組成と厚さを調べたところ、不飽和炭化水素が体表炭化水素の主成分になるのはモンシロの休眠蛹だけであった。モンシロの非休眠蛹、オオモンシロの休眠と非休眠蛹はどれも飽和炭化水素が95%を占めていた。つぎに体表炭化水素の厚さを測定すると、モンシロの非休眠蛹と休眠蛹の厚さはそれぞれ20 nmと200 nmなのに対し、オオモンシロ非休眠蛹で200 nm、休眠蛹では1  $\mu\text{m}$ になっていた。<sup>8)</sup> 脂質の相転移を知らないオオモンシロはそのかわり飽和炭化水素を厚塗りして越冬するとも言える。

体表の炭化水素の厚さや組成を変える昆虫の乾燥対策は、私たちがいろいろなクリームを試したり、また、厚塗りすることと似ている。

以上、ショウジョウバエの寒冷地適応を脂質の相転移という視点から紹介した。かれらは脂質の熱挙動を見事にコントロールしている。

### 謝 辞

ここで紹介した研究は大津 敬, 木村 正人, 高橋 浩, 上野 聡, 村勢 則郎, 金子 順一の諸氏との共同研究の成果である。

### 文 献

- 1) D. ハリディ, J. ウォーカー, R. レスニック, 野崎 光昭監訳, 「物理学の基礎2. 波・熱」, 培風館 (2002). このミツバチの行動を脂質の物理化学の実験テーマにできないかと考えている。
- 2) 昆虫の越冬を休眠と呼び、哺乳類や両生類の冬眠と区別している。哺乳類や両生類にとって冬は不利な環境であり、冬眠は冬の環境に完全に適応しているとは言えない。動物園で飼育されているクマは冬眠しないことも例証としてあげることができる。
- 3) T. Ohtsu, C. Katagiri, M. T. Kimura, and S. H. Hori, *J. Biol. Chem.* **268**, 1830 (1993).
- 4) H. Takahashi, S. Ueno, and C. Katagiri, *J. Appl. Crystal.* **36**, 545 (2003).

- 5) 久保亮五編, 「大学演習熱学熱統計力学」, 裳華房. 第4章「相平衡および化学平衡」, 演習問題[20]. それぞれ融点 $T_1$ ,  $T_2$ , 融解熱 $L_1$ ,  $L_2$ を持つ2種の金属1, 2は液相ではよく混ざり合い理想溶液を作るが, 固相では全く溶けあわないものとする. この場合の相図を定める方程式を導け. 特に共融点を定める式を与えよ. 簡単のため, 融解熱は温度によってほとんど変わらないものとする.
- 6) 白澤聖一, 豊島 尊, 佐藤清隆, 双和祥二, 古川義純, 片桐千仞, 日本農芸化学会大会発表 (2003年3月), 双和祥二, 上野 聡, 佐藤清隆, 白澤聖一, 古川義純, 片桐千仞, 日本農芸化学会大会発表 (2004年3月).
- 7) T. Ohtsu, M. T. Kimura, and C. Katagiri, *Eur. J. Biochem.* **252**, 608 (1998).
- 8) J. Kaneko and C. Katagiri, *Naturwissenschaften.* **91**, 320 (2004).

## 要 旨

脂質はタンパク質や糖質とともに生物を形づくっている。生物の生息環境下で固・液の相転移が容易に起こりうる事がタンパク質や糖質と異なる脂質の特色である。昆虫は

熱帯を起源とし、地球上に広く分布している。変温動物の昆虫が寒冷地でも生息できるようになった要因を脂質に着目して私たちは探ってきた。エネルギー源であるトリアシルグリセロール, 生体膜のリン脂質, 体表の炭化水素について, 相転移の回避や利用を昆虫がおこなっている例を報告する。

片桐千仞 Chihiro Katagiri

北海道大学低温科学研究所, Institute of Low Temperature Science, Hokkaido Univ., TEL. 011-706-6878, FAX. 011-706-7142, ck@lowtem.hokudai.ac.jp

研究テーマ: 「昆虫」と「脂質」をキーワードに, 「寒冷地適応」と「血液中のリポタンパク質リポホリンの構造と機能」の二つのテーマを主に追っている。

趣味: 水泳とクロスカントリースキーで水の2態を楽しんでいる。旅先ではコンサートホールと美術館それに動物園があればうれしい。