

## 膜翅目における卵黄蛋白質遺伝子の保存性

畠山 正統・高寺 憲司・大石 陸生

Masatsugu HATAKEYAMA<sup>1)</sup>, Kenji TAKADERA<sup>2)</sup> and Kugao OISHI<sup>2)</sup>: Homology conservation of vitellogenin genes and their products among hymenopteran insects\*

<sup>1)</sup> Division of Science of Biological Resources, Graduate School of Science and Technology, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657, Japan

<sup>2)</sup> Department of Biology, Faculty of Science, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657, Japan

様々な昆虫で卵黄蛋白質が調べられており、それらは主に雌の脂肪体で合成されて体液中に分泌され (vitellogenin: Vg)、発育中の卵母細胞に取り込まれて貯えられる (vitellin: Vn) ことが知られている (Wyatt, 1991)。また、昆虫の卵黄蛋白質はその産生様式の特徴から3つのグループに分けられている (Harnish and White, 1982)。これまでに膜翅目昆虫の卵黄蛋白質を広く調べたところ、広腰亜目はグループ1 (1本のポリペプチドが2つに切断されて卵母細胞に取り込まれるタイプ) に属し、細腰亜目はグループ2 (1本のポリペプチドが切断されずに卵母細胞に取り込まれるタイプ) に属することがわかった。さらに、カブラハバチ *Athalia rosae* (広腰亜目、ハバチ科) の卵黄蛋白質、L-Vn (分子量: 180 kD) および S-Vn (分子量: 50 kD) に対する特異抗体を用いてウエスタンブロット解析を行うと、調べたすべての広腰亜目で高分子量 (約180 kD) の Vn には抗 L-Vn 抗体が、低分子量 (約50 kD) の Vn には抗 S-Vn 抗体がそれぞれ反応し、数種の細腰亜目では1本の高分子量 (約180 kD) の Vn に対して両方の抗体が反応し、膜翅目昆虫内で亜目を越えて卵黄蛋白質の抗原共通性が見いだされた (Oishi et al., 1993)。これらの結果から、膜翅目昆虫の卵黄蛋白質は、見かけ上、広腰亜目と細腰亜目で異なっているもののその遺伝子は保存されていて、合成、分泌の過程でポリペプチドのプロセッシングが多少異なっているのではないかと推測される。

これまでに、私たちはカブラハバチ Vg のほぼ全長にあたる cDNA (6.0 kb) をクローン化して一部塩基配列を決定し、S-Vg はその5'末端側に、L-Vg はその3'末端側にコードされていることを確認している (Kageyama et al., 1994)。そこで、このカブラハバチ Vg cDNA の一部をプローブにして、膜翅目昆虫の卵黄蛋白質遺伝子について mRNA レベルでの保存性を調べた。今回は広腰亜目2科6種、細腰亜目2科3種について調べた。これらはすべて六甲山麓で採集したものである。

広腰亜目は、カブラハバチの近縁種であるセグロカブラハバチ *Athalia infumata*、ニホンカブラハバチ *Athalia japonica*、イヌノフグリハバチ *Athalia kashmirensis* の3種と、ハバチ科の2種、クロハバチ *Macrophya ignava*、オスグロハバチ *Dolerus similis*、および、ミフシハバチ科のアカスジチュウレンジ *Arge nigrinodosa* を調べた。cDNA の5'末端付近の500 bp (S-Vg をコードしている部分) をプローブにしてノーザンブロット解析を行うと、すべての種でカブラハバチと同じ6.5 kbの1本の mRNA のバンドが検出され、科を越えて卵黄蛋白質 mRNA が保存性されていた (Fig. 1)。近縁3種では特に反応性が高く、S-Vg コード領域については非常に保存性が高いことが示された。一方、3'末端付近の L-Vg をコードしている領域との反応性は弱く、これらの Vg mRNA はよく似ているものの同一ではないことが示唆される。

細腰亜目は、スズメバチ科のキアシナガバチ *Polistes rothneyi*、セグロアシナガバチ *Polistes jadwigae* とコシブトハナバチ科のクマバチ *Xylocopa appendiculata* を調べた。スズメバチ科の2種についてはカブラハバチの抗 Vn 抗体に対する抗原共通性が高いことがわかっている (Oishi et al., 1993)。しかしながら、今回は3種とも5'末端領域、3'末端領域のいずれをプローブに用いても mRNA は検出されなかった。この結果から、1) 細腰亜目の卵黄蛋白質ではその分子量 (約180kD) をあわせて考えると Vg mRNA の両末端が欠けていて、S-Vg と L-Vg の境界部分が保存されている、2) 用いた個体はすべて野外採集したものでその卵黄形成過程が不詳であるため、そもそも卵黄蛋白質遺伝子の転写が行われていなかったか、あるいはあったとしても全 RNA に

\* Abstract of paper read at the 30th Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, June 3-4, 1994 (Sugadaira, Nagano).

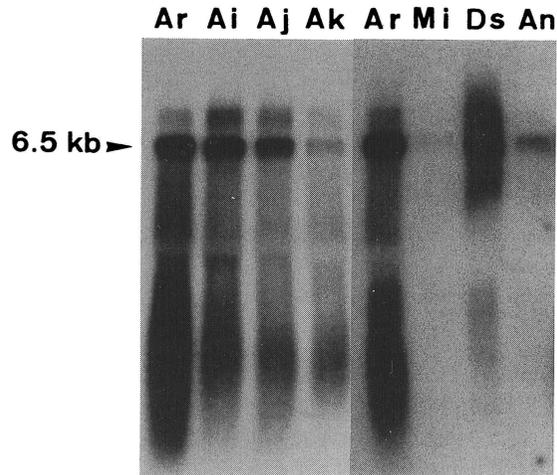


Fig. 1 Northern blot analysis of total RNAs (1-5  $\mu$ g) each extracted from a single female of symphytan species. The probe used was a 500 bp-long 5'-terminal region of *Athalia rosae* Vg cDNA which encodes a part of S-Vg, and hybridization was performed under the highest stringency conditions as described in Kageyama *et al.* (1994). Arrowhead indicates a 6.5 kb single mRNA band detected in each species. Ar: *Athalia rosae* (1  $\mu$ g total RNA), Ai: *Athalia infumata* (1  $\mu$ g), Aj: *Athalia japonica* (1  $\mu$ g), Ak: *Athalia kashmirensis* (1  $\mu$ g), Mi: *Macrophya ignava* (5  $\mu$ g), Ds: *Dolerus similis* (5  $\mu$ g), An: *Arge nigrinodosa* (2.5  $\mu$ g).

対する Vg mRNA の割合が少なく検出不能であった、3) ハイブリダイゼーション、洗浄共に厳しい条件でノーザンプロット解析を行ったため、検出できなかった、などの可能性が考えられる。

以上のように、広腰亜目ではかなりよく卵黄蛋白質遺伝子が mRNA レベルで保存されていることがわかった。さらに膜翅目内での保存性を幅広く調べると共に、特に細腰亜目については卵黄形成過程のわかっている種を選んで mRNA レベルだけでなく、ゲノム DNA レベルまで調べる必要があると思われる。

#### 引用文献

- Harnish, D. G. and B. N. White (1982) *J. Mol. Evol.*, **18**, 404-413.  
 Kageyama, Y., T. Kinoshita, Y. Umehono, M. Hatakeyama and K. Oishi (1994) *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **24**, 599-605.  
 Oishi, K., M. Yamashita, Y. Kageyama, M. Hatakeyama and T. Naito (1993) *Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.*, (**28**), 27-29.  
 Wyatt, G. R. (1991) *Invert. Reprod. Dev.*, **20**, 1-35.