

チビキアシヒラタヒメバチ（膜翅目・細腰亜目）の 卵黄蛋白質 cDNA クローニング

野瀬 義明・畠山 正統・大石 陸生

Yoshiaki NOSE¹⁾, Masatsugu HATAKEYAMA²⁾ and Kugao OISHI^{1),2)}: Cloning of cDNA for vitellogenin of the parasitoid wasp, *Pimpla nipponica* (Hymenoptera: Apocrita)*

¹⁾ Graduate School of Science and Technology, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657, Japan

²⁾ Department of Biology, Faculty of Science, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657, Japan

昆虫の卵黄蛋白質は、主として雌の脂肪体で合成され、体液中に放出され (vitellogenin: Vg)、発育中の卵母細胞に蓄積される (vitellin: Vn) (Wyatt, 1991)。昆虫は卵黄蛋白質 (Vg) の産生様式により、三つのグループに分けられている (Harnish and White, 1982)。1本のポリペプチドとして合成されたものが切断、放出され、卵母細胞に取り込まれるグループ1、1本のポリペプチドとして合成されたものがそのまま放出され、卵母細胞に取り込まれるグループ2、複数の遺伝子からそれぞれ短いポリペプチドとして合成され、放出され、卵母細胞に取り込まれるグループ3である。

膜翅目昆虫は、広腰亜目と細腰亜目からなり、カブラハバチなどの広腰亜目はグループ1に属し、亜目内では卵黄蛋白質の抗原共通性があり、また Vg mRNA の塩基配列にも類似性があることが示されている (Takadera *et al.*, 1996)。一方、細腰亜目はミツバチの報告からグループ2に属しており (Wheeler and Kawooya, 1990)、膜翅目の二つの亜目では卵黄蛋白質の産生様式が異なっていることが推測される。最近カブラハバチを含むグループ1に属する昆虫数種で Vg 遺伝子あるいは cDNA がクローン化され、その構造が類似していることが指摘されている (Romans *et al.*, 1995)。

そこで、膜翅目内で亜目による卵黄蛋白質の産生様式の相違が何に起因するのか、また、細腰亜目の Vg 遺伝子は、これまでに得られている昆虫 Vg 遺伝子あるいは cDNA とは類似性があるのかどうかという点を明らかにするために細腰亜目に属するチビキアシヒラタヒメバチ *Pimpla nipponica* の Vg cDNA のクローニングと構造解析を試みた。

まず、チビキアシヒラタヒメバチ主要卵黄蛋白質の同定を行った。卵抽出物の SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動により、約185kDaの1本のポリペプチドを検出し、グループ2に属すると判定した。この主要卵黄蛋白質に対するポリクローナル抗体を作製してウエスタンブロット解析を行い、対応する Vg が雌の体液中、そし

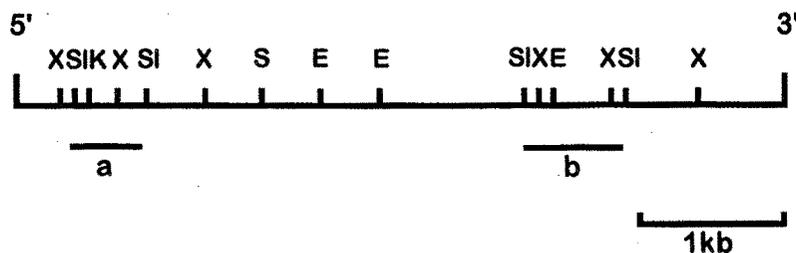


Fig. 1 A restriction map of the cloned *Pimpla nipponica* Vg cDNA. Fragments used as probes for Northern blot analyses were shown below the map. E: *Eco*R I, K: *Kpn* I, S: *Sac* I, Sl: *Sal* I, X: *Xho* I.

* Abstract of paper read at the 32nd Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, May 30 - 31, 1996 (Hatonosu, Tokyo).

て少量ながら雄の体液中に存在することを明らかにした。次に雌成虫脂肪体165個体分を出発材料として poly A⁺RNA を精製し、定法に従い cDNA ライブラリーを得た。これより、チビキアシヒラタヒメバチ主要卵黄蛋白質に対する抗体を用いたスクリーニングを行い、45個の陽性クローンを得た。最長のものは5.3kbであった。10個の陽性クローンについて制限酵素地図を作製したところいずれも一致することから、チビキアシヒラタヒメバチ主要卵黄蛋白質 cDNA クローンは1分子種に由来するものと考えた (Fig. 1)。得られたクローンからの断片をプローブとしてチビキアシヒラタヒメバチ雌脂肪体から抽出した全RNA についてノーザンブロットティング法を用いて調べたところ、6.0kb のバンドを検出し (Fig. 2)、これをチビキアシヒラタヒメバチ Vg mRNA であると結論した。

現在、5.3kb のクローンをを用いて一次構造の解析を行っており、今後カブラハバチや他の昆虫の Vg cDNA との比較を行い、またその発現時期、様式についても検討する予定である。

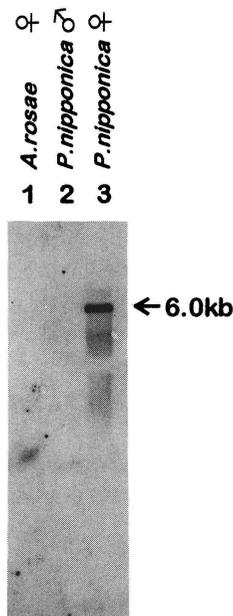


Fig. 2 Results of Northern blot analyses using the probe a (a 400 bp-long fragment located near the 5' region of *Pimpla nipponica* Vg cDNA, see Fig. 1). Total RNAs from adult fat body cells of *Athalia rosae* females (5 μ g, lane 1), *P. nipponica* males (5 μ g, lane 2) and *P. nipponica* females (1 μ g, lane 3) were hybridized with the probe. A 6.0 kb mRNA band was detected only in *P. nipponica* females. Essentially the same results were obtained, when the probe b (a 700 bp-long fragment near the 3' region, see Fig. 1) was used.

引用文献

- Harnish, D. G. and B. N. White (1982) *J. Mol. Evol.*, **18**, 404–413.
 Romans, P., Z. Tu, Z. Ke and H. H. Hagedorn (1995) *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **25**, 939–958.
 Takadera, K., M. Yamashita, M. Hatakeyama and K. Oishi (1996) *J. Insect Physiol.*, **42**, 417–422.
 Wheeler, D. E. and J. K. Kawooya (1990) *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, **14**, 253–267.
 Wyatt, G. R. (1991) *Invert. Reprod. Dev.*, **20**, 1–35.