

半翅目昆虫の卵黄蛋白質の保存性について

李 載政・畠山 正統・大石 陸生

Jae Min LEE¹⁾, Masatsugu HATAKEYAMA²⁾ and Kugao OISHI^{1,2)}: Similarities in vitellin and vitellogenin antigenicities among the hemipteran insects*

¹⁾Division of Bioscience, Graduate School of Science and Technology, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657-8501, Japan

²⁾Department of Biology, Faculty of Science, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657-8501, Japan

昆虫の卵黄蛋白質は、雌脂肪体で合成され、体液中に放出され、卵形成にともなって卵母細胞に選択的に取り込まれ蓄積される、卵黄の主要な可溶性蛋白質である。これらの卵黄蛋白質の前駆体を Vitellogenin (Vg) と呼ぶ。Vg は一般的に、雌成虫に特異的に存在することが大きな特徴の一つである。また、卵母細胞に取り込まれた Vg は糖鎖付加やリン酸化などの修飾を受けており、Vg と区別して Vitellin (Vn) と呼ばれる (Wyatt, 1991; Raikhel and Dhadialla, 1992)。卵黄蛋白質は鳥類、魚類などの脊椎動物をはじめ、昆虫を含む種々の無脊椎動物でクローニングされ、その遺伝子構造が解析されている。従来、卵黄蛋白質は単なる胚発生段階で使われる栄養源であり、アミノ酸組成に大きな変更を生じない限り、遺伝子突然変異が蓄積され得ると考えられていたが、最近の研究からその遺伝子構造はよく保存されており、同じ遺伝子スーパーファミリーを構成していることが分かってきた (Bownes, 1992; Chen et al., 1997)。

現在まで、6種類の昆虫で Vg 遺伝子あるいは cDNA がクローニングされている。このうち、わたしたちの研究室では、膜翅目の2種類 (カブラハバチ、チビキアシヒラタヒメバチ) の Vg cDNA をクローニングした (Kageyama et al., 1994; Nose et al., 1997)。また、6種類の昆虫間での Vg のアミノ酸配列を比較してみた結果、同じ膜翅目内あるいは同じ鱗翅目内では保存性が高く、目が離れると保存性が低くなることから、Vg 遺伝子は系統関係を反映しているのではないかと考え、近隣結合法で系統樹を作成した (Nose et al., 1997)。その結果は、Kristensen (1991) による形態的な特徴を基に作られた系統樹、さらに、最近の18S rRNA 遺伝子を用いて作られた分子系統樹 (Chalwatzis et al., 1996) と一致していた。このことから、Vg も系統樹を描く分子マーカー遺伝子として使えるのではないと思われる。しかし、これまでクローニングされているのはすべて完全変態昆虫の Vg 遺伝子なので系統樹に根がない。そこで、不完全変態昆虫である半翅目昆虫のチャバネアオカメムシ (異翅亜目)、アブラゼミ (同翅亜目) の卵黄蛋白質遺伝子について調べることにした。半翅目は異翅亜目と同翅亜目からなり、完全変態昆虫との Vg の保存性の比較だけでなく、亜目間の比較も可能である。

今回は、cDNA クローニングに必要な抗 Vn 抗血清を得た段階で、これを用いて数種の半翅目昆虫の Vn、Vg について抗原共通性を調べた。チャバネアオカメムシの卵抽出物を SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で調べることにより170 kDa と55 kDa の Vn を検出したので、それぞれを L-Vn、S-Vn と呼ぶことにした。アブラゼミも同様に170 kDa、43 kDa の Vn を検出したので、それぞれを L-Vn、S-Vn と呼んだ。これらの Vn それぞれに対するポリクロナール抗血清を製し、亜目内、亜目間の抗原共通性を調べた (Table 1)。チャバネアオカメムシ *Plautia stali* の抗 L-Vn、抗 S-Vn 抗血清は、調べた3種のセミ (アブラゼミ *Graptopsaltria nigrofusca*、ミンミンゼミ *Cryptotympana japonensis*、クマゼミ *Oncotympana maculaticollis*) の卵抽出物中のどのタンパク質とも反応しなかった。アブラゼミの抗 L-Vn 抗血清は3種のセミの高分子量の Vn と考えられるタンパク質と、抗 S-Vn 抗血清は低分子量の Vn と考えられるタンパク質と反応した。この結果から、半翅目では卵黄蛋白質の抗原共通性は亜目内では高いが、亜目を超えると低くなることがわかった。

抗原共通性を調べた結果が Vg の一次構造の保存性と一致するのか、また、Vg アミノ酸配列を用いて製し

* Abstract of paper read at the 34th Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, May 21-22, 1998 (Mikawa, Aichi).

Table 1 Results of immuno-blot analysis using anti-*Plautia stali* Vn antisera and anti-*Graptopsaltria nigrofuscata* Vn antisera.

Antiserum	<i>Plautia stali</i>	<i>Graptopsaltria nigrofuscata</i>	<i>Cryptotympana japonensis</i>	<i>Oncotympana maculaticollis</i>
Anti- <i>P. stali</i> L-Vn	+	-	-	-
Anti- <i>P. stali</i> S-Vn	+	-	-	-
Anti- <i>G. nigrofuscata</i> L-Vn	-	+	+	±
Anti- <i>G. nigrofuscata</i> S-Vn	-	+	+	+

た分子系統樹は昆虫の系統関係を反映するのか、興味のもたれるところである。今回得られたチャバネアオカメムシ、アブラゼミの抗 Vn 抗血清を用いてこれらの Vg cDNA をクローニングし、その構造解析を行い、さらに、系統樹を作製して Vg が昆虫の系統を反映する分子マーカーになり得るかを検討する。

引用文献

- Bownes, M. (1992) *J. Lipid Res.*, **33**, 777-790.
- Chalwatzis, N., J. Hauf, Y. van de Peer, R. Kinzelbach and F.K. Zimmermann (1996) *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **89**, 788-803.
- Chen, J.S., T.W. Sappington and A.S. Raikhel (1997) *J. Mol. Evol.*, **44**, 440-451.
- Kageyama, Y., T. Kinoshita, Y. Umesono, M. Hatakeyama and K. Oishi (1994) *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **24**, 599-605.
- Kristensen, N.P. (1991) In CSIRO (ed.), *The Insects of Australia, Vol. 1, 2nd ed.*, pp. 125-140. Melbourne University Press, Carlton.
- Nose, Y., J.M. Lee, T. Ueno, M. Hatakeyama and K. Oishi (1997) *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **27**, 1047-1056.
- Raikhel, A.S. and T.S. Dhadialla (1992) *Annu. Rev. Entomol.*, **37**, 217-251.
- Wyatt, G.R. (1991) *Invert. Reprod. Dev.*, **20**, 1-35.