

カブラハバチにおける性分化遺伝子ホモログの単離

島山 正統・山本 大介・炭谷 めぐみ・李 載昺

Masatsugu HATAKEYAMA¹⁾, Daisuke S. YAMAMOTO²⁾, Megumi SUMITANI³⁾ and Jae Min LEE⁴⁾: Cloning of the Sex-determining Gene Homolog in the Sawfly, *Athalia rosae ruficornis* (Hymenoptera)*

¹⁾ Developmental Mechanisms Laboratory, Developmental Biology Department, National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Ibaraki 305–8634, Japan

²⁾ Department of Biology, Graduate School of Science and Technology, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657–8501, Japan

³⁾ Division of Bioscience, Graduate School of Science and Technology, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657–8501, Japan

⁴⁾ Research Center for Environmental Genomics, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657–8501, Japan
E-mail: sawfly@nias.affrc.go.jp (MH)

カブラハバチ *Athalia rosae ruficornis* は、他の多くの膜翅目昆虫と同様に雄産生単為発生を行ない、受精卵は二倍体の雌に、未受精卵は半数体の雄になる。カブラハバチでは、単一遺伝子座・複対立遺伝子によって性が決定され、同系交配によって二倍体の雄、三倍体の雌雄を得ることが可能である。二倍体、三倍体の雄は、半数体の雄と同様に非減数的な成熟分裂を行ない、それぞれ二倍体、三倍体の精子を生じる。一方、三倍体の雌は、減数的な成熟分裂を行なって異数体の卵を生じ、これらは正常に発生しない (Naito and Suzuki, 1991)。このようにカブラハバチの配偶子形成過程では、倍数性に関係なく、雄は減数分裂を行わず、雌は減数分裂を行なうことから、性と減数分裂の有無が密接に関連していると考えられる (Oishi *et al.*, 1998)。

昆虫の性決定に関する分子機構はキイロシヨウジョウバエで詳細に調べられているが、他の昆虫との共通性は見いだされていなかった。しかしながら、最近になってキイロシヨウジョウバエの性分化遺伝子、*doublesex* (*dsx*) の相同遺伝子が昆虫だけでなく他の動物にも存在し、その構造や機能が保存されていることが明らかになってきた (Raymond *et al.*, 1998; Marin and Baker, 1998; Zarkower, 2001)。とくに、この遺伝子産物の DNA 結合ドメイン (DM ドメイン) は保存性が高いことがわかっている (Zhu *et al.*, 2000)。そこで、カブラハバチの性決定機構と減数分裂との関連を明らかにするために、性決定に関わる遺伝子の単離と同定を試みた。

まず、昆虫、センチュウ、および脊椎動物で得られている、*dsx* 相同遺伝子産物の DM ドメインを比較した。とくによく保存されている部分に対する縮重プライマーを作成し、カブラハバチ雌雄成虫から得たゲノム DNA をそれぞれ鋳型にして PCR を行なった。雌雄いずれにおいても期待された長さ (約 100 bp) の DNA 断片が増幅され、塩基配列を決定してアミノ酸配列を推測した結果、DM ドメインの一部であると考えられた。つぎに、蛹前期の雌雄を用いて cDNA ライブラリーを作成し、先に得られた DNA 断片の塩基配列をもとに設定した配列特異的プライマーを使って、5'-RACE (rapid amplification of cDNA ends) PCR および 3'-RACE PCR を行なった。その結果、雌雄で転写産物が異なると予想される cDNA を得た。いずれの転写産物にも、既知の DM ドメインと非常に保存性の高い領域が存在し (Fig. 1)、*dsx* のホモログと結論した。

* Abstract of paper read at the 37th Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, June 1–2, 2001 (Nihonmatsu, Fukushima).

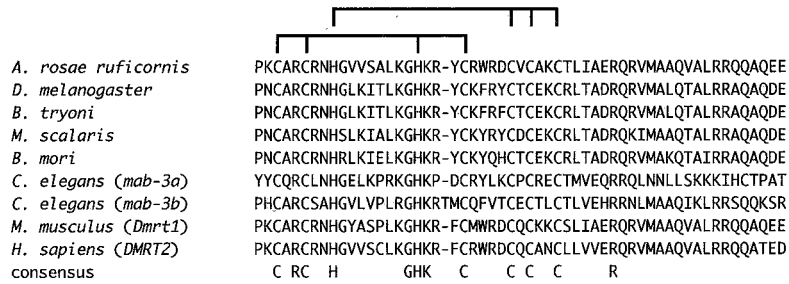


Fig. 1 Alignment of the DM domains of *Drosophila melanogaster doublesex* and the homologs isolated from *Athalia rosae ruficornis*, *Bactrocera tryoni*, *Megaselia scalaris*, *Bombyx mori*, *Caenorhabditis elegans (mab-3a, mab-3b)*, *Mus musculus* and *Homo sapiens*. The consensus amino acids are shown below. Clamps indicate two intertwined DNA binding sites in which cysteines and histidines at conserved positions are coordinate Zn^{2+} to form zinc modules.

引用文献

- Marin, I. and B.S. Baker (1998) *Science*, **281**, 1990–1994.
- Naito, T. and H. Suzuki (1991) *J. Hered.*, **82**, 101–104.
- Oishi, K., M. Hatakeyama and M. Sawa (1998) In R.N. Chatterjee and L. Sanchez (eds.), *Genome Analysis in Eukaryotes: Developmental and Evolutionary Aspects*, pp. 50–64. Narosa Publishing House, New Delhi.
- Raymond, C.S., C.E. Shamu, M.M. Shen, K.J. Seifert, B. Hirsch, J. Hodgkin and D. Zarkower (1998) *Nature*, **391**, 691–695.
- Zarkower, D. (2001) *Nature Rev. Genet.*, **2**, 175–185.
- Zhu, L., J. Wilken, N.B. Phillips, U. Narendra, G. Chan, S.M. Stratton, S.B. Kent and M.A. Weiss (2000) *Genes Dev.*, **14**, 1750–1764.