

## 膜翅目昆虫卵黄蛋白質の変異と抗原共通性の保存

大石 陸生・山下 満左裕・影山 裕二・畠山 正統・内藤 親彦

Kugao OISHI<sup>1)</sup>, Masahiro YAMASHITA<sup>1)</sup>, Yuji KAGEYAMA<sup>1)</sup>, Masatsugu HATAKEYAMA<sup>2)</sup> and Tikhiko NAITO<sup>3)</sup>: Variations and conservation of immunological homology in the yolk proteins of Hymenoptera\*

<sup>1)</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657, Japan

<sup>2)</sup>Division of Science of Biological Resources, Graduate School of Science and Technology, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657, Japan

<sup>3)</sup>Laboratory of Entomology, Faculty of Agriculture, Nada, Kobe, Hyogo 657, Japan

昆虫の卵黄蛋白質は、通例、雌脂肪体で合成された前駆体 (pro-vitellogenin, pro-Vg) が、体液中に放出され (vitellogenin, Vg)、発育中の卵母細胞に取り込まれ (vitellin, Vn) てできる。しばらく前までは、卵黄蛋白質は胚の発育に必要な養分にすぎないと考えられ、突然変異によるアミノ酸の置換が自由に起こり、類縁関係が少し遠くなれば抗原の共通性は失われると考えられていた (Postlethwait and Giorgi, 1985)。事実、シマメイガ科 (鱗翅目) の 2 亜科 6 属 7 種について調べた結果では、亜科を越えると抗原共通性がみられなくなると報告されている (Shirk, 1987)。しかしながら、最近の Vg 遺伝子の研究によれば、線虫 (*Caenorhabditis elegans*)、ウニ (*Storonylocentrotus purpuratus*)、ニワトリ (*Gallus gallus*)、アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*)、トノサマバッタ (*Locusta migratoria*) などの間で遺伝子の共通性の保存が認められている (Blumenthal and Zucker-Aprison, 1987; Wahli, 1988)。

膜翅目昆虫の卵黄蛋白質についての研究は、これまでほとんど細腰亜目 (Apocrita) のヨウシュミツバチ (*Apis mellifera*) に限られ、同種は同目昆虫の代表として扱われてきた (Wheeler and Kawooya, 1990)。しかしながら、膜翅目昆虫の進化を考えると、ミツバチは真社会性であること、植物食性であることなど、明らかに非常に特殊化したグループであり、代表種とするには問題があると思われる。

我々は先に広腰亜目 (Symphyta) のカブラハバチ (*Athalia rosae*) について、卵形成過程を調べ、卵黄蛋白質についても調べてきた (Hatakeyama *et al.*, 1990; Hatakeyama and Oishi, 1990)。卵黄蛋白質は SDS-PAGE で 2 本のポリペプチド L (分子量 180 kD) と S (50 kD) とに分けられ、それぞれに対する抗体が得られている。この結果は、ヨウシュミツバチの Vg が分子量 180 kD の 1 本のポリペプチドからなる (Harnish and White, 1982; Wheeler and Kawooya, 1990) ことと対照的である。

昆虫の卵黄蛋白質は、その産生様式によって 3 グループに分けられてきた (Postlethwait and Giorgi, 1985) : 大部分の昆虫では分子量が >200 kD の pro-Vg が脂肪体でまず作られ、180 kD と 50 kD 程度の大きさの 2 (ないし数) 本の Vg になる (グループ 1)。膜翅目昆虫では (とこれまで言われてきたヨウシュミツバチでは) 180 kD の pro-Vg から同分子量の Vg ができる (グループ 2)。ショウジョウバエなどの高等双翅目では、50 kD 位の数分子種の Vg ができる (グループ 3)。

昨年の本大会では、カブラハバチの Vg は雌脂肪体で L+S (>200 kD) の pro-Vg としてまず産生されることを報告した (Umesono *et al.*, 1991)。この結果をふまえると、膜翅目昆虫は特殊であるというこれまでの考え方には益々疑問を生じる。そこで、今回は広く膜翅目昆虫につて、卵抽出物の SDS-PAGE による分析を行い、また抗カブラハバチ L および S 抗体を用いるウェスタンブロット法による解析を行った (Table 1)。今回は卵抽出物のみを用いており、成虫体液を用いていないので、検出された卵黄蛋白質が Vn であるかの確認はしていない。材料は全て神戸市六甲山付近で採集したものである。

結果は次のようにまとめられる。

1) 広腰亜目では、広く L (1 ないし 2 本) と S (1~3 本) とが認められる。抗カブラハバチ L 抗体は L とのみ、抗 S 抗体は S とのみ反応する。この反応は科を越え、さらに上科を越えて殆ど例外なく認められる。

\* Abstract of paper read at the 28th Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, May 22-23, 1992 (Okutama, Tokyo).

Table 1 Major yolk proteins in various hymenopteran species and their reactions examined against anti-*Athalia rosae*-L and -S vitellin (Vn) antibodies.

Species	Yolk protein* (MW in kD)	Reactions**against		Species	Yolk protein* (MW in kD)	Reactions**against	
		anti-L-Vn antibody	anti-S-Vn antibody			anti-L-Vn antibody	anti-S-Vn antibody
<b>SYMPHYTA</b>				<b>APOCRITA</b>			
Family Pamphiliidae				Family Ichneumonidae			
<i>Onycholyda</i> sp.	L (185)	++	-	<i>Coccygomimus luctuosus</i>	L (225)	-	-
	S (50)	-	++		L (185)	+	+
	S (45)	-	++		L (165)	-	-
Family Argidae				<i>Coccygomimus nipponicus</i>	L (225)	-	-
<i>Arge captiva</i>	L (180)	++	-		L (190)	-	-
	S (60)	-	++		L (155)	-	-
<i>Sterictiphora</i> sp.	L (180)	++	-	<i>Itoptetics naranyae</i>	L (195)	+	+
	S (50)	-	++		L (155)	-	-
Family Tenthredinidae				<i>Amblyjoppa proteus</i>	L (180)	++	++
<i>Aneugmenus</i> sp.	L (195)	++	-	Family Scoliidae			
	L (180)	-	-	<i>Campsozeris prismatica</i>	L (215)	-	-
	S (60)	-	++		L (190)	-	+
<i>Heptamelus</i> sp.	L (180)	-	-	Family Pompilidae			
	S (45)	-	++	<i>Episyron arrogans</i>	L (180)	-	-
<i>Nesotomostethus</i> sp.	L (190)	++	-	Family Sphecidae			
	S (50)	-	++	<i>Sphex argentatus</i>	L (230)	-	-
<i>Empria</i> sp.	L (190)	++	-	L (195)	-	++	
	S (47)	-	++	L (190)	-	+	
	S (45)	-	++	Family Vespidae			
<i>Athalia infumata</i>	L (180)	++	-	<i>Parapolybia varia</i>	L (185)	++	++
	S (50)	-	++	<i>Polistes mandarinus</i>	L (180)	++	-
<i>Athalia japonica</i>	L (180)	++	-	L (160)	-	-	
	L (170)	++	-	<i>Polistes rothneyi</i>	L (180)	++	+
	S (50)	-	++	L (160)	-	-	
<i>Tenthredo</i> sp.	L (190)	++	-	<i>Polistes jadwigae</i>	L (180)	++	+
	S (60)	-	++	L (160)	-	-	
	S (55)	-	++	L (160)	-	-	
<i>Corymbus</i> sp.	L (200)	++	-	Family Eumenidae			
	L (180)	-	-	<i>Oreumenes decoratus</i>	L (220)	-	-
	S (50)	-	++	L (185)	-	++	
<i>Macrophya</i> sp.	L (190)	++	-	L (150)	-	-	
	L (175)	++	-	<i>Anterhychium flaromarginatum</i>			
	S (45)	-	++	L (215)	-	-	
<i>Pachyprotasis</i> sp.	L (195)	++	-	L (195)	+	++	
	S (50)	-	++	L (160)	-	-	
				<i>Eumenes rubronolatus</i>	L (220)	-	-
			L (190)	+	+		
			L (155)	-	-		
Family Andrenidae				Family Andrenidae			
<i>Andrena</i> sp.				L (190)	+	+	
Family Megachilidae				Family Megachilidae			
<i>Megachile tsurugensis</i>				L (180)	+	+	

\* Egg extracts were run on SDS-PAGE along with molecular size markers, and molecular weights (in kD) were estimated. Only major yolk proteins were represented. Note that hemolymph samples were not examined and thus the "yolk proteins" do not necessarily represent vitellins.

\*\* Results of the Western blot analysis using the anti-*Athalia rosae* L and S vitellin antibodies prepared previously (Hatakeyama *et al.*, 1990). Antibody dilutions were either  $\times 1,000$  for L and  $\times 500$  for S (positive results are shown by ++) or  $\times 100$  for L and  $\times 50$  for S (shown by +).

2) 細腰亜目では L (1~3本) のみが認められ、S は検出されない。多数の種で、抗カブラハバチ L および S 抗体との反応が検出される。反応は例外なく L の1本とのみ起こり、多くの場合抗 L および抗 S 抗体の両者が反応する。

以上の結果から、膜翅目昆虫では Vg および Vn はよく保存されていることが明らかである。昨年の大会発表の結果、および今回の結果を合わせると、広腰亜目では Vg 遺伝子は一つの単位として転写、翻訳され、産

物ポリペプチドが切断され、一方、細腰亜目では、基本的にはよく保存された遺伝子を持ちながら、その産物ポリペプチドが切断されなくなっているものと思われる。なお、上記2)の結果から、主要卵黄蛋白質に Vn 以外のものがあることが示唆され、成虫体液の分析が必要なことは明らかである。

#### 引用文献

- Blumenthal, T. and E. Zucker-Aprison (1987) In J. D. O'Connor (ed.), *Molecular Biology of Invertebrate Development*, pp. 3-19. Alan R. Liss, New York.
- Harnish, D. G. and B. N. White (1982) *J. Exp. Zool.*, **220**, 1-10.
- Hatakeyama, M. and K. Oishi (1990) *J. Insect Physiol.*, **36**, 791-797.
- Hatakeyama, M., M. Sawa and K. Oishi (1990) *Invert. Reprod. Devel.*, **17**, 237-245.
- Postlethwait, J. H. and F. Giorgi (1985) In L. W. Browder (ed.), *Developmental Biology-A comprehensive Synthesis, Vol. 1* pp. 85-126. Plenum Press, New York.
- Shirk, P. S. (1987) *Int. J. Invert. Reprod. Devel.*, **11**, 173-183.
- Umesono, Y., Y. Kageyama and K. Oishi (1992) *Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.*; (27), 37-38.
- Wahli, W. (1988) *Trends Genet.*, **4**, 227-232.
- Wheeler, D. E. and J. K. Kawooya (1990) *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, **14**, 253-267.