

トランスクリプトーム解析を用いた ハチ目昆虫の精子形成特異的に発現する遺伝子の探索と同定

島山 正統・横井 翔

Masatsugu HATAKEYAMA and Kakeru YOKOI: Transcriptomic analysis of genes
expressed specifically in spermatogenesis of hymenopteran insects*

Division of Insect Advanced Technology, Institute of Agrobiological Sciences, National Agriculture and Food Research
Organization (NARO), 1–2 Owashi, Tsukuba, Ibaraki 305–8634, Japan
E-mail: sawfly@affrc.go.jp (MH)

https://doi.org/10.60372/paesj.55.0_43

ハチ目昆虫は通常、受精卵からは二倍体のメス、未受精卵からは半数体のオスを生じる。半数体オスでは、精子形成過程の成熟分裂では減数分裂を伴わず、半数体の精子をつくる。いくつかのハチ目昆虫では、二倍体や三倍体のオスが発現することが知られているが (Naito and Suzuki 1991; Cowan and Stahlhut 2004; van Wilgenburg et al. 2006; Cournault and Aron 2009)、これらのオスもその倍数性にかかわらず成熟分裂では減数分裂を伴わない。一方、メスでは倍数性にかかわらず、卵形成過程の成熟分裂で減数分裂を伴い、二倍体ではない倍数性の場合には染色体不分離により不妊となる (Liebert et al. 2004; de Boer et al. 2007)。精子形成過程での減数分裂回避は、ハチ目昆虫が分岐して半数–倍数性の単為生殖能を獲得したことと密接に関わっていると考えられる。オスに特異的な減数分裂制御のメカニズムが、実際にどのような分子機構の改変で生じたかを探究するために、ハチ目昆虫の中でも最も祖先的なグループに属し (Misof et al. 2014)、全ゲノムが解読され (Oeyen et al. 2020)、遺伝子機能を解析するための RNAi 法が確立されている (Yoshiyama et al. 2013)、実験モデル種のカブラハバチ *Athalia rosae ruficornis* Jakovlev を用い、精子形成の減数分裂期に特異的に発現している遺伝子を探索した。

前回の第58回大会では、蛹期の精巣と卵巣からそれぞれ調整した全 RNA をもとに RNA-Seq を行い、発現している遺伝子を網羅的に抽出し、精巣でのみ発現する19遺伝子を同定したことを報告した。このうちハチ目昆虫のみに存在し、機能が明らかになっていない遺伝子について、RNAi による発現阻害を誘発して調べた結果、この遺伝子は精子形成への関与は示唆されたものの、減数分裂の回避に決定的な役割を果たすものではないと推測した。

そこで今回は、減数分裂が進行する初期の蛹に加え、それ以前の発育段階の精巣からも全 RNA を抽出し、複数のサンプルを用いてトランスクリプトーム解析を行い、機能解析対象となる遺伝子候補を探索した。その結果、卵巣では全く発現せず精巣のみで発現している103遺伝子を得た。そのうちハチ目昆虫にしか存在していない7遺伝子を同定した。また、ハチ目昆虫とアミメカゲロウ目のヤマトクサカゲロウ *Chrysoperla carnea*、ハチ目昆虫とコウチュウ目のツノグロモンシデムシ *Nicrophorus vespilloides* にのみ存在が認められた2遺伝子を同定できた。このように同定できた9遺伝子のうち、ハチ目昆虫特異的な6遺伝子とハチ目昆虫とツノグロモンシデムシに存在する遺伝子は、精巣で減数分裂が進行する蛹初期に発現ピークがあり、ハチ目昆虫とヤマトクサカゲロウに存在する1遺伝子は前蛹期から蛹初期に同等量の発現がみられた。いずれの遺伝子も終齢幼虫の精巣でも発現はみられるものの、蛹初期の精巣での発現量と比較すると100分の1以下である。今後これらの遺伝子について、エクソン部分に対する二本鎖 RNA (dsRNA) を作成して終齢幼虫に注入して遺伝子発現を阻害 (遺伝子ノックダウン) し、成熟分裂および精子形成に及ぼす影響の確認を進めている。

引用文献

- Cournault L, S Aron (2009) Diploid males, diploid sperm production, and triploid females in the ant *Tapinoma erraticum*. *Naturwissenschaften*, **96**, 1393–1400.
- Cowan DP, JK Stahlhut (2004) Functionally reproductive diploid and haploid males in an inbreeding hymenopteran with complementary sex determination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America*, **101**, 10374–10379.

* Abstract of paper read at the 59th Annual Meeting of the Arthropodan Embryological Society of Japan, June 30–July 1, 2023, Urabandai, Fukushima, Japan.

- de Boer J, PJ Ode, LEM Vet, JB Whitfield, GE Heimpel (2007) Diploid males sire triploid daughters and sons in the parasitoid wasp *Cotesia vestalis*. *Heredity*, **99**, 288–294.
- Liebert AE, RN Johnson, GT Switz, PT Starks (2004) Triploid females and diploid males: Underreported phenomena in *Polistes* wasps? *Insectes Sociaux*, **51**, 205–211.
- Misof B, S Liu, K Meusemann, RS Peters, A Donath, C Mayer, PB Frandsen, J Ware, T Flouri, RG Beutel, O Niehuis, M Petersen, F Izquierdo-Carrasco, T Wappler, J Rust, AJ Aberer, U Aspöck, H Aspöck, D Bartel, A Blanke, S Berger, A Böhm, TR Buckley, B Calcott, J Chen, F Friedrich, M Fukui, M Fujita, C Greve, P Grobe, S Gu, Y Huang, LS Jermini, AY Kawahara, L Krogmann, M Kubiak, R Lanfear, H Letsch, Y Li, Z Li, J Li, H Lu, R Machida, Y Mashimo, P Kapli, DD McKenna, G Meng, Y Nakagaki, JL Navarrete-Heredia, M Ott, Y Ou, G Pass, L Podsiadlowski, H Pohl, BM von Reumont, K Schütte, K Sekiya, S Shimizu, A Slipinski, A Stamatakis, W Song, X Su, NU Szucsich, M Tan, X Tan, M Tang, J Tang, G Timelthaler, S Tomizuka, M Trautwein, X Tong, T Uchifune, MG Walz, BM Wiegmann, J Wilbrandt, B Wipfler, TKF Wong, Q Wu, G Wu, Y Xie, S Yang, Q Yang, DK Yeates, K Yoshizawa, Q Zhang, R Zhang, W Zhang, Y Zhang, J Zhao, C Zhou, L Zhou, T Ziesmann, S Zou, Y Li, X Xu, Y Zhang, H Yang, J Wang, J Wang, KM Kjer, X Zhou (2014) Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution. *Science*, **346**, 763–767.
- Naito T, H Suzuki (1991) Sex determination in the sawfly, *Athalia rosae ruficornis* (Hymenoptera): Occurrence of triploid males. *Journal of Heredity*, **82**, 101–104.
- Oeyen JP, P Baa-Puyoulet, JB Benoit, LW Beukeboom, E Bornberg-Bauer, A Buttstedt, F Calevro, EI Cash, H Chao, H Charles, MJM Chen, C Childers, AG Cridge, P Dearden, H Dinh, HV Doddapaneni, A Dolan, A Donath, D Dowling, S Dugan, E Duncan, EN Elpidina, M Friedrich, E Geuverink, JD Gibson, S Grath, CJP Grimmelikhuijzen, E Große-Wilde, C Gudobba, Y Han, BS Hansson, F Hauser, DST Hughes, P Ioannidis, E Jacquín-Joly, EC Jennings, JW Jones, S Klasberg, SL Lee, P Lesný, M Lovegrove, S Martin, AG Martynov, C Mayer, N Montagné, VC Moris, M Munoz-Torres, SC Murali, DM Muzny, B Oppert, N Parisot, T Pauli, RS Peters, M Petersen, C Pick, E Persyn, L Podsiadlowski, MF Poelchau, P Provataris, J Qu, MJMF Reijnders, BM von Reumont, AJ Rosendale, FA Simao, J Skelly, AG Sotiropoulos, AL Stahl, M Sumitani, EM Szuter, O Tidswell, E Tsitlakidis, L Vedder, RM Waterhouse, JH Werren, J Wilbrandt, KC Worley, DS Yamamoto, L van de Zande, EM Zdobnov, T Ziesmann, RA Gibbs, S Richards, M Hatakeyama, B Misof, O Niehuis (2020) Sawfly genomes reveal evolutionary acquisitions that fostered the mega-radiation of parasitoid and eusocial Hymenoptera. *Genome Biology and Evolution*, **12**, 1099–1118.
- van Wilgenburg E, G Driessen, LW Beukeboom (2006) Single locus complementary sex determination in Hymenoptera: An “unintelligent” design? *Frontiers in Zoology*, **3**, 1.
- Yoshiyama N, K Tojo, M Hatakeyama (2013) A survey of the effectiveness of non-cell autonomous RNAi throughout development in the sawfly, *Athalia rosae* (Hymenoptera). *Journal of Insect Physiology*, **59**, 400–407.