

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中進度報告

## 對非循果蠅微卵管發育模式之桃蚜與德國蜚蠊進行卵極性 生成及生殖細胞專化之分子解析(1/2)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC93-2313-B-002-046-

執行期間：93年03月01日至93年07月31日

執行單位：國立臺灣大學昆蟲學系暨研究所

計畫主持人：張俊哲

共同主持人：洪淑彬

計畫參與人員：林季瑋

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 93 年 5 月 28 日

# 國科會計畫進度報告

計畫主題：對非循果蠅微卵管發育模式之桃蚜與德國蜚蠊進行卵極性生成及生殖細胞專化之分子解析(1/2)

計畫主持人：張俊哲 助理教授 (國立台灣大學昆蟲學系)

計畫執行期限： 1<sup>st</sup> March to 27<sup>th</sup> May 2004

日期：27<sup>th</sup> May 2004

本計畫之目的在於解析蚜蟲卵發育時期 (oogenesis)，體軸與生殖細胞 (germline/germ cell) 專化 (specification) 之分子機制。我們選定孤雌生殖 (parthenogenetic) 之蚜蟲，取其卵發育與胚胎發育 (embryogenesis) 發生於同一微卵管 (ovariole) 中，便於觀察標第基因 (target gene) 與蛋白 (target protein) 由卵發育至胚發育之表現。我們初步發現，雖然 Vasa 蛋白表現在生殖幹細胞 (germline stem cells) 與胚胎的生殖細胞當中，但是在蚜蟲的卵母細胞 (oocyte) 中，Vasa 蛋白並無在任何區域定位 (localization) 表現 (圖一) (Chang et al., 2002)。這與已知的 Vasa 蛋白在果蠅 (*Drosophila melanogaster*) 卵母細胞中的表現有所不同：在果蠅中，Vasa 蛋白集中表現於發育中之卵母細胞的後端 (posterior)；在受精後 (fertilization) 後，Vasa 蛋白進入後端首批細胞化 (cellularization) 的細胞中，而這些細胞之後

即成為初始生殖細胞 (primordial germ cells)。他們在原腸期 (gastrulation) 的後期，會與性腺中胚層 (gonadal mesoderm) 嵌合 (coalescence)，形成原始的性腺 (gonad) (Hay et al., 1988; Lasko and Ashburner, 1988)。蚜蟲 Vasa 蛋白在卵母細胞中不具區域定位表現所顯示可能性至少有二：(一) 蚜蟲 Vasa 蛋白並不若果蠅 Vasa 蛋白，影響後端體軸之形成；(二) *vasa* 基因仍然涉入後端體軸之形成，但是以 *vasa* mRNA 的型式參與，而非 Vasa 蛋白來進行。

因此，我們第一階段的主要工作在著力於蚜蟲 *vasa* 基因選殖。目前，已成功地分別於桃蚜 (*Myzus persicae*) 以及竹莖扁蚜 (*Pseudogregama bambucicola*，以下簡稱扁蚜) 當中選殖出的 *vasa* 部分基因序列。在 DNA 序列方面，桃蚜與扁蚜於 354 個鹼基對 (base pairs) 裡面，相同度 (identity) 為 69% (圖二 A)；在轉譯 (translate) 的蛋白質序列比對結果，桃蚜與扁蚜的相同度為 66%，次為豌豆蚜 (*Acyrtosiphon pisum*) 的 63% (豌豆蚜未發表的蛋白序列由 Dr. David Stern 提供)，再來依序為蝗蟲 53%、果蠅 52% (Hay et al., 1988; Lasko and Ashburner, 1988)、家蠶 51% (Nakao, 1999) 以及斑馬魚 42% (Olsen et al., 1997; Yoon et al., 1997) (圖二 B)。我們肯定所選殖出的基因為 *vasa*，因其所轉譯的胺基酸序列含有 5 個專屬 “DEAD-box” 蛋白的保守區

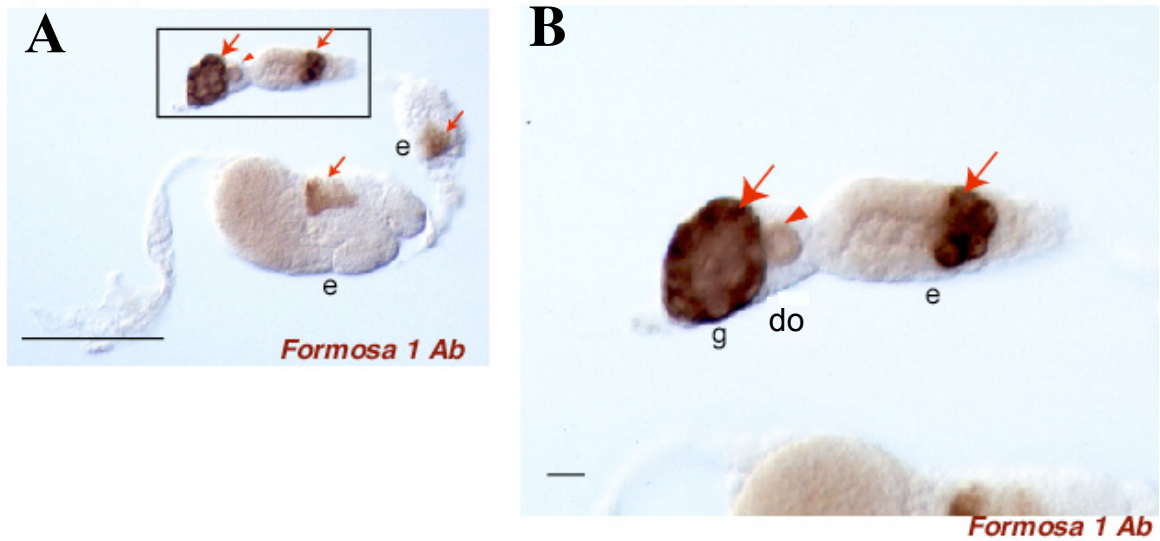
域，與已發現的 Vasa 蛋白屬性相吻合 (Vasa 蛋白為 “DEAD-box” 蛋白家族之一員，為一種 ATP-dependent RNA helicase)；並且，桃蚜與扁蚜的 Vasa 蛋白，在現有的蛋白質序列資料庫中，和已發現的各種 Vasa 蛋白質序列最為接近，足顯示他們隸屬於 Vasa 蛋白家族。

在下一階段，我們將進行 *vasa* 基因序列之選殖，以及運用原位雜合法 (*in situ hybridization*) 解析他們在卵發育與胚胎發育時期的表現。

## 參考文獻

- Chang, C. C., Dearden, P. and Akam, M.** (2002). Germ line development in the grasshopper *Schistocerca gregaria*: *vasa* as a marker. *Dev. Biol.* **252**, 100-118.
- Hay, B., Jan, L. Y. and Jan, Y. N.** (1988). A protein component of *Drosophila* polar granules is encoded by *vasa* and has extensive sequence similarity to ATP-dependent helicases. *Cell* **55**, 577-587.
- Lasko, P. F. and Ashburner, M.** (1988). The product of the *Drosophila* gene *vasa* is very similar to eukaryotic initiation factor-4A. *Nature* **335**, 611-617.
- Nakao, H.** (1999). Isolation and characterization of a *Bombyx vasa*-like gene. *Dev. Genes Evol.* **209**, 312-316.
- Olsen, L. C., Aasland, R. and Fjose, A.** (1997). A *vasa*-like gene in zebrafish identifies putative primordial germ cells. *Mech. Dev.* **66**, 95-105.
- Yoon, C., Kawakami, K. and Hopkins, N.** (1997). Zebrafish *vasa* homologue RNA is localized to the cleavage planes of 2- and 4-cell-stage embryos and is expressed in the primordial germ cells. *Development* **124**, 3157-3165.

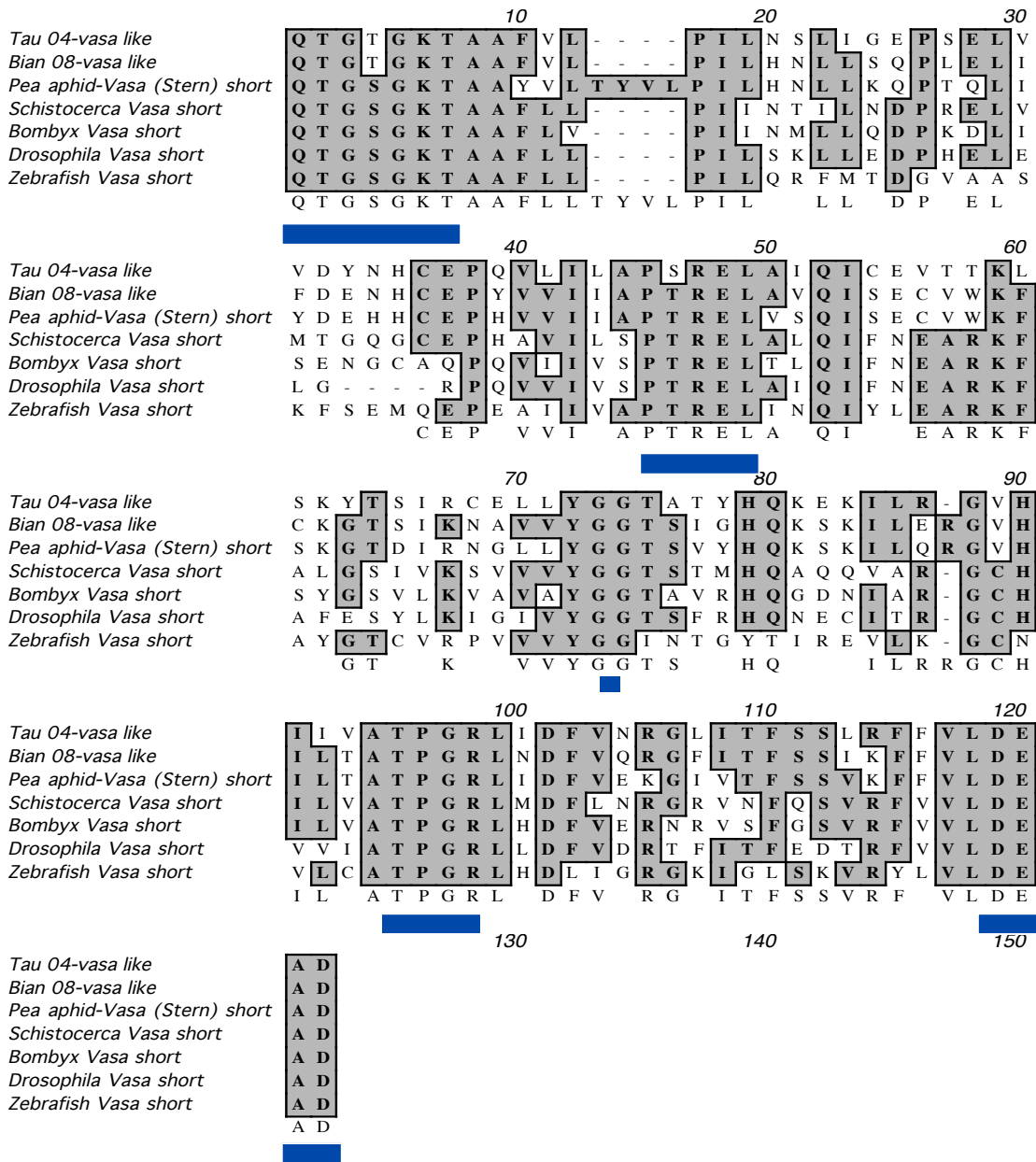
附圖一



圖一: **Expression of Vasa protein in the parthenogenetic aphid ovariole.** A, Ovarioles were stained with a cross-reactive antibody against Vasa, namely the formosa 1 Ab (Chang et al (2002)). B, the magnification of the inset in A. Vasa protein was identified in germline stem cells in the germarium (g) and germ cells in the embryo (e) (arrows), whereas no posterior localization was identified in the developing oocyte (do) (arrow head).



**B**



圖二. Analysis of aphid vasa sequences. A, alignment of DNA sequences of aphid vasa homologues. B, alignment of amino-acid sequences of aphid Vasa homologues and other Vasa proteins. Green peach aphid (Tau), Bamboo stem aphid (Bian). Identical sequences are outlined with grey boxes; consensus Sequences are listed under these boxes. Blue boxes highlight the location of conserved sequences of “DEAD-box” proteins.