

カイコの幼虫期と蛹期に与えた放射性アミノ酸の卵巣へのとり込み

小 原 隆 三・河 合 孝

(鳥取大学農学部附属農場) (鳥取大学農学部応用昆虫学研究室)

昭和49年9月10日受理

Incorporation of Labelled Amino Acid into Ova during
Ovarian Development in the Silkworm, *Bombyx mori* L.

Ryuzo KOBARA and Takashi KAWAI*

*(Experimental Farm, Faculty of Agriculture, Tottori University. *Department of Applied Entomology, Faculty of Agriculture, Tottori University)*

The labelled amino acid (^{14}C -glycine) was given to the larvae or pupae of the silkworm, *Bombyx mori*, either orally or parenterally in order to investigate how the amino acid (glycine) would be consumed for egg-formation in the pupal stage. The incorporation of ^{14}C -glycine into the ovary was detected by means of autoradiography and agarose-gel electrophoresis using the ova within the pupal body. The results were as follows:

When ^{14}C -glycine was administered through mouth parts or by injection, it was incorporated into the whole ovaries and, as well, in the electrophoretic patterns of ovarian protein, the radioactivity caused by ^{14}C -glycine was found uniformly in each band. According to these facts, a nutritious substance which once had been stored in a tissue was considered to be released slowly from the tissue into haemolymph with ovarian development, being consumed for egg-formation.

When ^{14}C -glycine was injected into the body cavity in several developmental stages from prepupa to the 7th after pupation, it was incorporated into the ovary in the largest quantity and into haemolymph in the second largest quantity, but little entered into the fat body.

In prepupal or early pupal stage, most of the ^{14}C -glycine was incorporated into the maturing ova within the lower part of the ovariole. But the incorporation of ^{14}C -glycine into the ova improved gradually from the middle to the upper part of the ovariole with ovum maturation.

In the electrophoretic pattern of ovarian protein, the radioactivity caused by ^{14}C -glycine was observed in the protein bands as moving relatively fast.

緒 言

体液タンパク質は脂肪体で合成される¹⁴⁾。そして、卵形成期にはそれらのタンパク質が直接卵巣内に移行し、卵黄に貯蔵されることが知られている^{17, 18, 19)}。

カイコにおいて、卵巣の発育は幼虫期においても徐々に進行しているが、本格的な発達は蛹期においてとげられる。この蛹期の卵形成は体外からの栄養供給のない閉鎖系で行なわれる。したがって卵形成の素材がどのように供給されるかは興味ある問題であり、実用的にも重要な問題である。

著者らは産卵性向上に関する基礎研究の一環として、幼虫期にとり込まれたアミノ酸が卵巣の形成にどのように利用されるか。また、蛹期においてアミノ酸は卵巣の形成といかなる関連をもつかを検討するために放射性アミノ酸を用いて研究した。

本報告はそれらの結果をまとめたものである。

材料および方法

供試したカイコは約25°Cで普通飼育した大造(T)であり、これらの5令幼虫ならびに蛹を用いた。

放射性アミノ酸としては¹⁴C-グリシン(u)(比放射能99.7 mic/mM, 5%エタノール溶液、第1化学薬品KK)を用いた。

放射性アミノ酸は、幼虫期においては注射の場合、体腔内へ1頭当たり0.5 μ ci、経口投与の場合には1 μ ciを供与し、蛹期においては1蛹当たり0.5 μ ciを注射した。なを、経口投与は投与量を一定とするため注射器で口器より注入した。また、処理はすべてエーテルで麻酔した後行なった。放射能のとり込みは各期、注射後20時間と化蛹後8日に調査した。

タンパク質はアガロース・ゲル電気泳動により分別した²⁰⁾。なお、化蛹後8日の卵巣は各卵管内の卵数を数え、3等分になるように卵を下、中、上部の3部分に分けて電気泳動に供した。

放射能のとり込みは電気泳動板と卵のオートラジオグラムによって調べた。オートラジオグラム作成の手順は次の通りである。体液はそのまま、卵巣と脂肪体は適量を小型乳鉢にとり少量の蒸留水を加えて磨砕した後、タンパク質を抽出し、その上清浸出液を一定の長さで切った木綿糸に吸収させ電気泳動を行なった。泳動板はアミドブラック10Bで染色、乾燥後、卵は蛹を解剖して取り出し、十分水洗後濾紙上に展開し、乾燥した後、い

れもX線フィルム(富士ノンスクリーン型No.200)と密着させ、適当な期間露出した後所定の現像を行なった。

実験結果ならびに考察

幼虫期：5令幼虫期に¹⁴C-グリシンを注射あるいは経口投与して、卵巣と体液へのとり込みについて化蛹8日に調べた結果は第1～4図に示した。これらの結果から、5令2、5、7日に¹⁴C-グリシンを経口あるいは注射により供与した場合、何れの区においても同様に卵管内の卵細胞中にほぼ均一に放射能がとり込まれていた。また、卵ならびに体液タンパク質へのとり込みは供与時期によっても差がみられず、さらに、卵巣の下、中、上部ならびに各泳動帯にも一様にみられた。そして、注射区においては経口投与区よりタンパク質への放射能のとり込みがやや少ない結果を示した。これは経口投与区に比して注射区で投与量が少なかったためによるものと考えられる。

福田ら(1963)は¹⁴C-放射性桑葉を用いて、食下桑葉と卵生成との関係を調べた結果、卵形成には4令期から5令初、中期にカイコが摂取した桑葉成分が利用されること、そしてそれらが雌ガ体の卵管内の各卵細胞に均一に分布していることを明らかにしている。

本実験において、5令期に供与した¹⁴C-グリシンの卵へのとり込みは、福田らの結果とほぼ同様であった。さらに、卵タンパク質の各泳動帯にも放射能が全体的にとり込まれることが明らかになった。

前蛹期から化蛹7日：前蛹期、化蛹1、3、5、7日にそれぞれ¹⁴C-グリシンを注射して、注射後20時間と化蛹8日にそれぞれ放射能のとり込みについて調べた。その結果は次の通りである。

注射後20時間での各組織タンパク質への放射能のとり込みは第5図に示した。その結果、そのとり込みは卵巣で最も多く、次いで体液で脂肪体では少なかった。そして、卵巣へのとり込みは化蛹3日を中心に最も多く、蛹期の初期と末期では少なかった。また、体液へのとり込みは前蛹期、蛹期の初めで若干みられ、蛹後期では殆んどみられなかった。

化蛹8日における各投与区での卵巣タンパク質への放射能のとり込みは第6図に示した。各泳動帯への放射能のとり込みは比較的移動度の高い泳動帯に多かった。また、卵巣の下、中、上部でのとり込みのパターンは蛹の発育ステージで差異がみられた。すなわち、そのとり込みは前蛹期ならびに化蛹1日で卵巣の下部の卵タンパク

質で最も多く、次いで中、上部と順次少なくなった。その後、蛹3日では卵管の下、中部の卵タンパク質で、蛹5日では卵管の中、上部の卵タンパク質で、蛹7日では卵管上部の卵タンパク質で最も多かった。

次に、蛹の各発育期に ^{14}C -グリシンを注射し、卵巣への放射能のとり込みを調べた結果は第7図に示した。そ

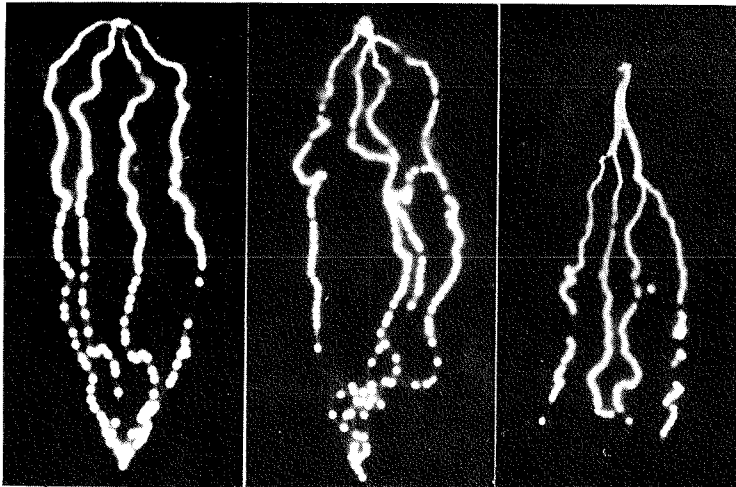
の結果、放射能のとり込み部位は蛹の発育ステージに伴って卵管内の卵細胞の下部から上部へと転移することが卵タンパク質の場合と同様明らかとなった。

以上、本研究において、5令初期から蛹7日までの各期に ^{14}C -グリシンを供与して卵巣タンパク質へのとり込みを化蛹8日に調べた結果、幼虫期と蛹期では明らかに

異ったパターンを示すことが明らかとなった。すなわち、幼虫期とり込まれた放射能は卵巣全体へ、しかもタンパク質の各泳動帯へ、蛹期においてとり込まれた放射能はそれぞれの時期で卵巣の発育の最も盛んであると考えられる部位へ、しかも電気泳動的に比較的移動度の高い泳動帯に多かった。

卵巣の発育は幼虫期においても認められるが、きわめてわずかで本格的な発達には蛹期間においてとげられる。このように蛹期に主として起る卵形成は体外からの栄養物質の供給のない閉鎖系で行なわれる。長谷川(1943)は蛹期間の卵巣発育について種々の観点から研究を行ない、蛹体内には卵巣の発育に利用される栄養物質が蛹体重の約30%存在することを推定している。したがって、これら栄養物質は幼虫期にとり込まれたものである。

幼虫期の栄養物質が幼虫-蛹の変態期において脂肪体に貯蔵される事実は、重松・竹下(1959)ならびに小原・河合(1972)らのカイコを用いた研究をはじめ、多くの研究者により実証されている^{1, 2, 3, 4, 7, 9, 11, 12, 20}。住岡・吉武(1974)は放射性アミノ酸の卵巣へのとり込みについて短時間トレースと長時間トレースによって研究した。その結果、幼虫期に給与されたアミノ酸の殆んどは、熟蚕期までは体液、脂肪体などの組織タンパクとして蓄積され、その後histolysisの時期に一部は卵形成期に先立ち



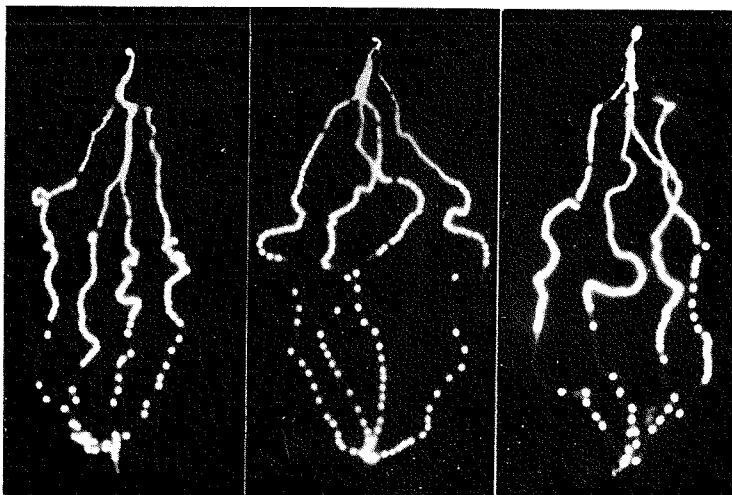
V-2

V-5

V-7

第1図 幼虫期に ^{14}C -グリシンを経口投与した場合の蛹8日における卵巣へのとり込み(露出5日)

V-2: 5令2日 以下同

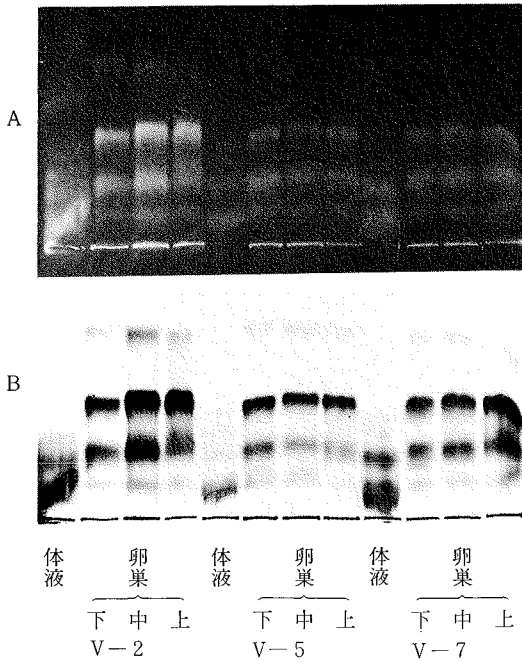


V-7

V-5

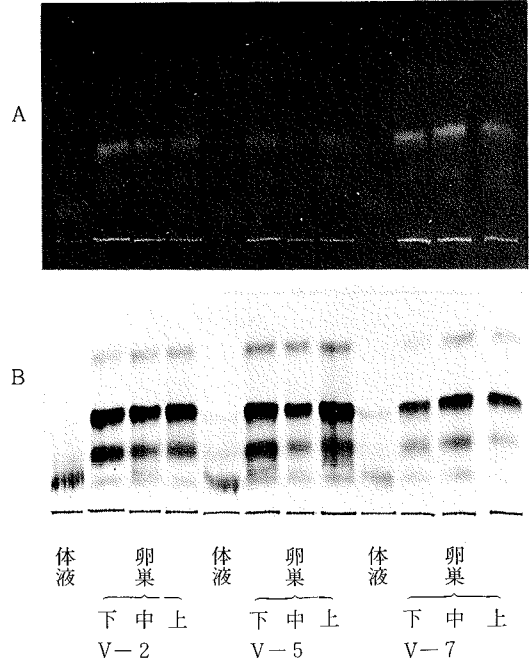
V-2

第2図 幼虫期に ^{14}C -グリシンを注射した場合の蛹8日における卵巣へのとり込み(露出5日)



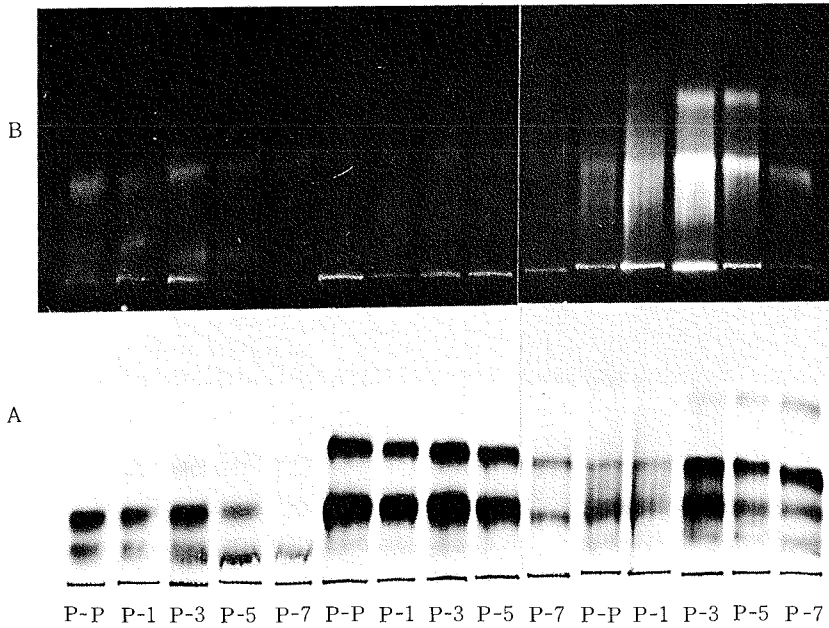
第3図 幼虫期に¹⁴C-グリシンを経口投与した場合の蛹8日における体液、卵巣タンパク質へのとり込み (露出3週間)

A: オートラジオグラム B: タンパク質泳動像



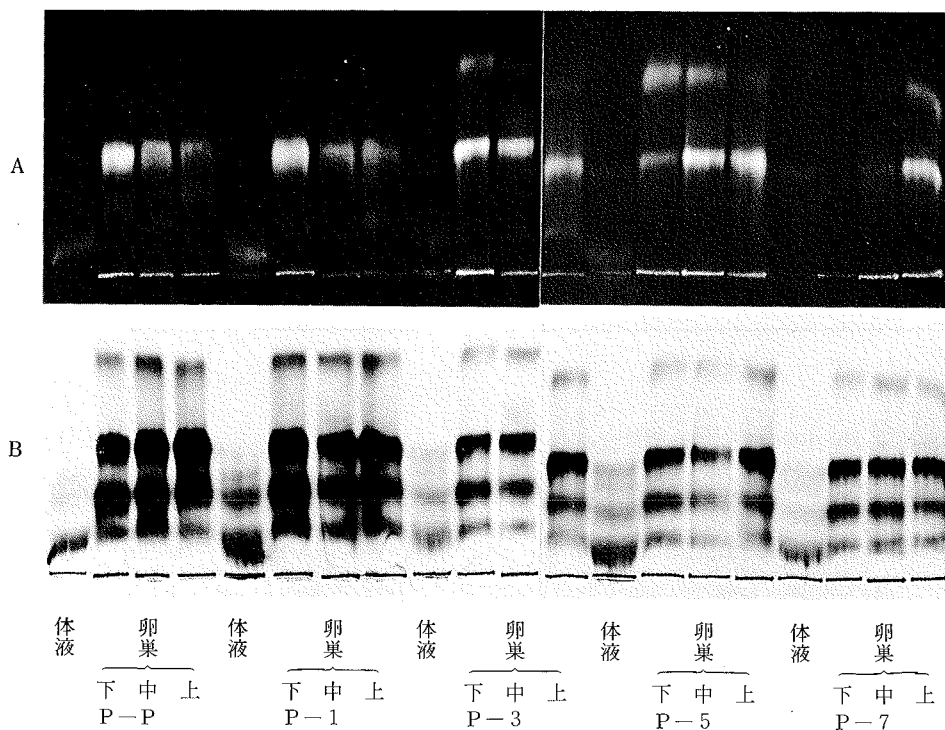
第4図 幼虫期に¹⁴C-グリシンを注射した場合の蛹8日における体液、卵巣タンパク質へのとり込み (露出3週間)

A: オートラジオグラム B: タンパク質泳動像



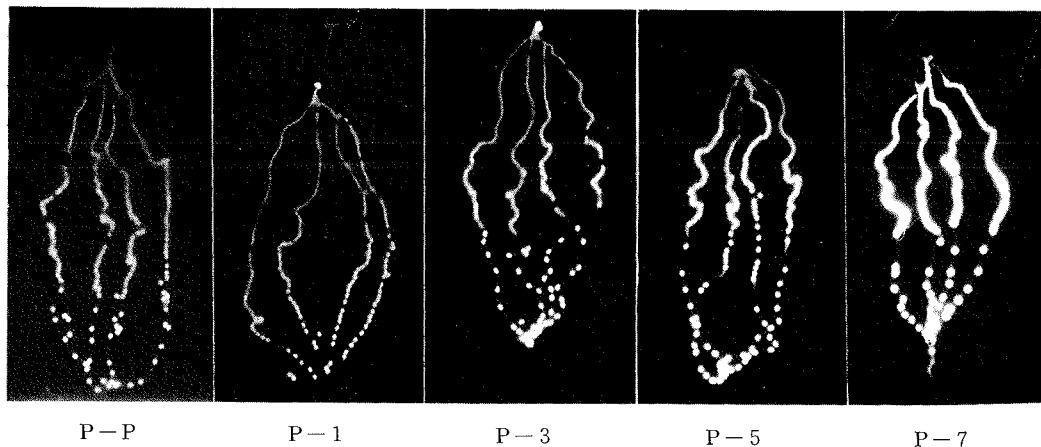
第5図 各発育段階に¹⁴C-グリシンを注射した場合の注射後20時間における組織タンパク質へのとり込み (露出2週間)

A: オートラジオグラム B: タンパク質泳動像 P-P: 前蛹 P-1: 蛹1日 以下同



第6図 蛹期に ^{14}C -グリシンを注射した場合の蛹8日における体液、卵巣タンパク質へのとり込み（露出2週間）

A: オートラジオグラム B: タンパク質泳動像



第7図 蛹期に ^{14}C -グリシンを注射した場合の蛹8日における卵巣へのとり込み（露出1日）

再び遊離の形として体液および脂肪体において存在した後、さらにその一部は卵巣で行なわれる卵タンパク質の合成の素材として卵巣内にとり込まれることを明らかにした。このように、卵は幼虫期貯えられた栄養物質が蛹期 histolysis により徐々に供給されて形成されるものと考えられる。そのため、幼虫期にとり込まれた放射能は卵全体に均一に分布したものと推察される。

一方、蛹期において、卵巣への放射能のとり込みは蛹令によってその部位が異った。カイコの卵巣は幼虫期から蛹期の初めでゆるやかに発育し、蛹3日頃より急速に発達する。そして、カイコの卵は蛹令の進むに伴って卵管内の下端から発育し、上端へと連続的に発育して行くことが知られている^{6, 8, 13}。また、Yamashita and Hasegawa (1969) は卵母細胞をその発育のステージによって

数群に分けて調べ、重量当りのタンパク質濃度は発育に伴って変化は認められず、卵母細胞当りのタンパク質含量については、その卵母細胞の発育ステージによって異なることを報告している。そして、タンパク質含量は発育のある時期に急激に増加することを示している。

これらのことから、本実験において¹⁴C-グリシンのとり込み部位が蛹のステージによって変化したことは、各ステージで卵管内において発育の最も盛んな卵細胞へのとり込みが多かったためと考えられる。

総 括

カイコの幼虫期ならびに蛹期に投与したアミノ酸が卵形成にどのように利用されるかを調べるために放射性アミノ酸を用いて研究した。

放射能のとり込みはアガロース・ゲル電気泳動と卵のオートラジオグラムによって調べた。

幼虫期に¹⁴C-グリシンを注射あるいは経口投与した場合、放射能は卵巣全体へ、しかも卵巣タンパク質の各泳動帯へ一様にとり込まれた。これは一たん体組織に貯蔵された栄養物質が蛹令の進むにつれて徐々に溶出し卵形成に用いられるためと考えられる。

前蛹期から化蛹7日に¹⁴C-グリシンを注射した場合、放射能のとり込みは卵巣で最も多く、ついで体液で、脂肪体では殆んど認められなかった。また、卵巣への放射能のとり込みは蛹の初期は卵巣の下部へ、そして卵巣の発育の進むにつれて中部から上部へと、とり込み部位が異って来た。さらに、卵巣タンパク質において、放射能は比較的移動度の高い泳動帯へ多くとり込まれた。

本研究の一部は文部省試験研究費(班長 長島栄一教授)によって行なったものである。

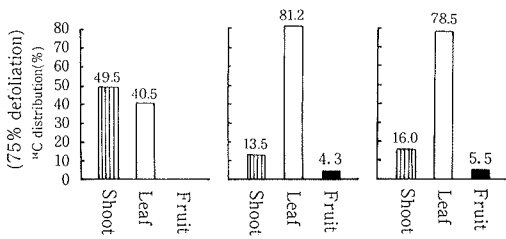
文 献

- 1) Chen P.S. and Leven book L.: *J. Insect physiol.*, **12**, 1611 (1966)
- 2) Chippendale G. M. and Beck S. D.: *J. Insect physiol.*, **13**, 955 (1967)
- 3) Chippendale G. M. and Kilby B. A.: *J. Insect physiol.*, **15**, 905 (1969)
- 4) Collins J. V. and Downe A. E. R.: *J. Insect physiol.*, **16**, 1697 (1970)
- 5) 福田紀文・亀山多美子・松田基一: 蚕試報, **18**, 157 (1963)
- 6) 長谷川金作: 蚕試報, **11**, 359 (1943)
- 7) Hudson A.: *Can. J. Zool.*, **44**, 541 (1966)
- 8) 伊与田茂・米山好人: 日蚕雑, **4**, 193 (1933)
- 9) Kilby B. A.: *Adv. Insect physiol.*, **1**, 111 (1963)
- 10) 小原隆三・河合孝: 鳥取大農研究報告, **24**, 13 (1972)
- 11) Locke M. and Collins J. V.: *J. cell Biol.*, **36**, 453 (1968)
- 12) Noguchi A., Takeshita H. and Shigematsu H.: *J. Insect physiol.*, **20**, 783 (1974)
- 13) 小沢民治: 日蚕雑, **28**, 211 (1959)
- 14) 重松孟: 蚕試報, **16**, 141 (1960)
- 15) 重松孟・竹下弘夫: 応動昆, **3**, 123 (1959)
- 16) 住岡秀司・吉武成美: 日蚕雑, **43**, 65 (1974)
- 17) Telfer W. H.: *J. Gen. physiol.*, **37**, 539 (1954)
- 18) Telfer W. H.: *Ann. Rev. Entomol.*, **10**, 161 (1965)
- 19) Telfer W. H. and Williams C. M.: *J. Gen. physiol.*, **36**, 389 (1953)
- 20) 藤条純夫: 応動昆, **15**, 180 (1971)
- 21) 渡部仁・小原隆三・保坂政子: 日蚕雑, **37**, 319 (1968)
- 22) Yamashita O. and Hasegawa K.: *Appl. Ent. Zool.*, **4**, 203 (1969)

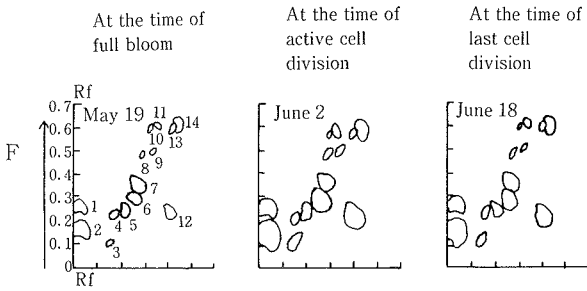
正 誤 表

頁	行	誤	正
目次	8 行 目	セルローズアセテート	Cellulose Acetate
◇	22~23行目	……交換容量、 圧膜法……	…交換容量、圧膜法… (1行にする)
1	8~9行目	Defoliation Last	Defoliation in Last
◇	10 行 目	During	during
27	5 行 目	rate	Rate
42	8 行 目	old	Old
67	右上9行目	<i>Anim. quart.,</i>	<i>Anim. Hlth Quart.,</i>
68	左下3行目	一般にに	一般に
69	右下1行目	(No.12, 13&15)	(Nos. 12, 13&15)
71	右下1行目	(No.12&13)	(Nos. 12&13)
75	左上5行目	(No.12&13)	(Nos. 12&13)
79	1 行 目	基礎的	基礎的
◇	9 行 目	feeding	Feeding
◇	10 行 目	fern	Fern
95	左下10行目	17月	17日
97	第 1 表	平高	最高
99	第 2 表	2月5日 (-74日)	(2月5日) (-74日)
105	Table9タイトル	<i>Fagus and Quercus.</i>	<i>Fagus and Quercus pollen.</i>
113	右上1~2行目	暴露後一定~測定を行なった	削除
117	3,4行の間		(鳥取大学農学部農業水利学研究室)
◇	5 行 目	TOTTORI	Tottori
129	6 行 目	According	according
◇	7 行 目	Capacity, Water	Capacity and Water
142	3,4行の間		昭和49年9月10日受理
◇	右下4行目	田中 寛氏	田中 豊氏
153	第 7 表	Na ₃ , N ₀₃	NO ₃
158	左下6行目	タシパク質	タンパク質

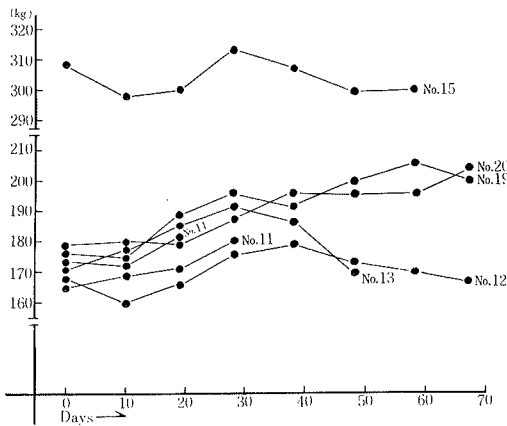
8頁 Fig. 5.



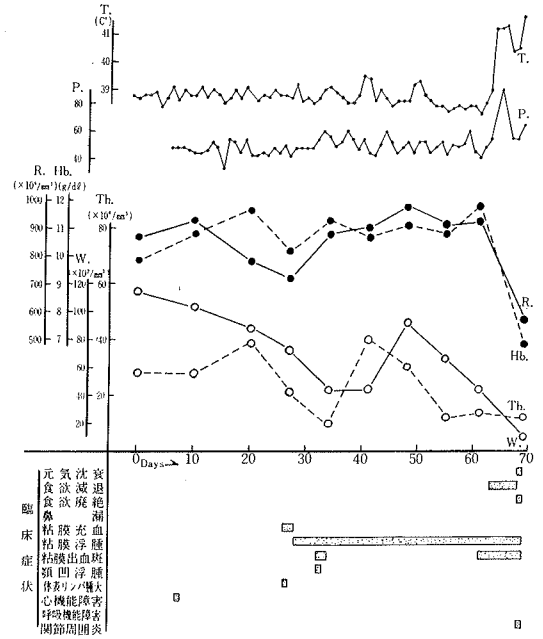
12頁 Fig. 10.



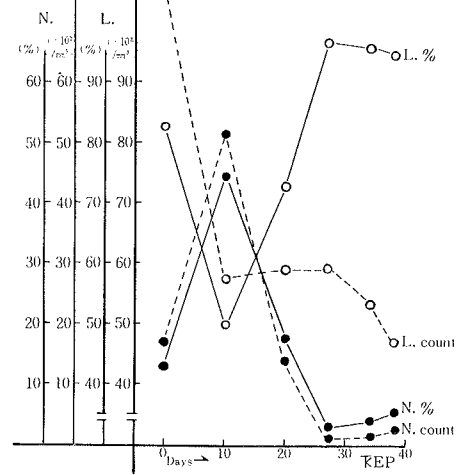
70頁 図1



71頁 図3



72頁 図7



74頁 図14

