

カイコにおける生殖巣の摘出，移植による体液蛋白質の変化

小原隆三・河合孝

(鳥取大学農学部応用昆虫学研究室)

Change of Haemolymph Proteins by Excision and Implantation of Gonads in the Silkworm, *Bombyx mori* L.

Ryuzo KOBARA and Takashi KAWAI

(Department of Applied Entomology, Faculty of Agriculture, Tottori University)

The relationship between the components of haemolymph proteins and the development of gonads was investigated by excision and implantation of gonads in the 5th instar stage of silkworm larvae.

There was little difference in the haemolymph proteins between castrated males and males in which ovaries were implanted after testisectomizing.

In ovariectomized females and females in which testes were implanted after ovariectomizing, the concentration of haemolymph proteins were little affected 4 days after pupation. Afterward, the haemolymph proteins of control females decreased in concentration but in the haemolymph of ovariectomized females, female specific protein increased in quantity, though the concentration of haemolymph proteins except female specific protein remained almost unchanged after excision of ovaries.

Female specific protein which included a great deal of lipoprotein was found to be especially rich in the ovaries of control females and the haemolymph proteins of pupae and adults whose ovaries were ectomized in their larval stage.

Most fractions of haemolymph proteins of females appeared in the electrophoretic pattern of ovary proteins of the same females.

The female specific protein of ovaries implanted in the body of castrated males was poor in concentration as compared with the ovaries of control females.

These results prove that female specific protein was synthesized in the silkworm's body but not in its ovaries, and the proteins of the body-fluids translated gradually to ovaries from the last stage of 5th instar to pupal stage.

緒言

昆虫の体液蛋白質に雌雄差のあることは電気泳動的あるいは免疫学的に明らかにされている^(1,16)。カイコの体液蛋白質に関しては5令(最終令)中期より成虫期まで明らかに雌雄で異なる蛋白質成分の存在することが明らかにされている^(5,7,8)。しかしこれら雌で特異的に多く現われる体液蛋白質がどのような機構にもとづいて生成されるかは明らかでない。この点を究明するために、まず生殖巣の発育と体液蛋白質との関連をとりあげ、生

殖巣の摘出，移植によって体液蛋白質成分がどのような影響をうけるかについて電気泳動法によって調べた。さらに卵蛋白質と体液蛋白質との関連についても調べ、若干の知見を得た。これらの結果について述べる。

材料および方法

供試したカイコは普通飼育した大造ならびに支124号×大造である。

生殖巣の摘出実験は次のように行なった。まずカイコ5令3日の幼虫をエーテルで麻酔した後、第8環節の背

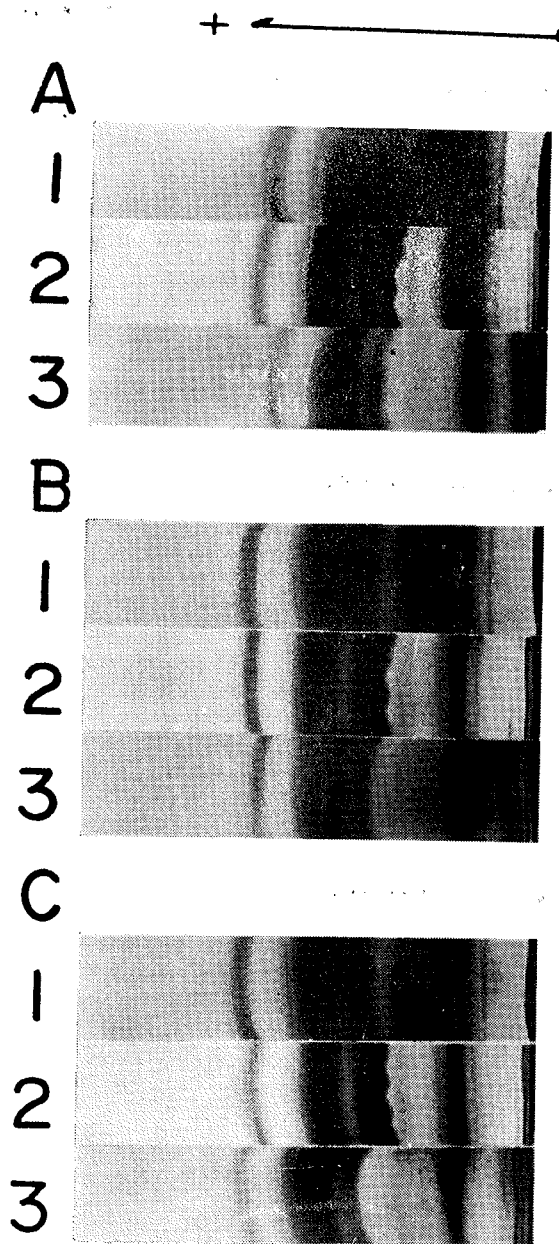
面両側にメスで傷つけ、卵巣あるいは精巣を摘出した。移植実験は同時期の幼虫を用い、それぞれ同一品種内で行なった。すなわち幼虫を解剖して、ていねいに生殖巣をとり出し、Ephrussi & Beadle の生理的食塩水中に入れておき、別に準備した卵巣摘出蚕には精巣を、精巣摘出蚕には卵巣をそれぞれ2ヶ宛、生殖巣を摘出した傷口よりていねいに挿入した。これらの操作に当っては器具の消毒ならびに出血をなるべく少なくするよう特に留意した。また対照蚕としては傷つけのみを行なった区を設けた。その後は何れの区も普通飼育とした。

体液の採取は処理後3日より各区個体別にディスク電気泳動では0.02ml宛採血して、その蛋白質の泳動像について調べた。なお供試個体はすべて実験終了後解剖して生殖巣の摘出ならびに移植の状態について調べ、不適当な個体はすべて除外した。また卵は成虫を解剖してとり出し、蒸留水できれいに洗って体液を除き付着している水分をとった後50mgとり蒸留水1mlを加えて小型乳鉢ですりつぶし、その試料を13,000 r. p. m. で10分間遠沈し、その上清0.5mlをディスク電気泳動に用いた。

電気泳動はアクリルアミドを支持体とするディスク電気泳動法ならびにアガロースを支持体とする薄層電気泳動法を用いて行なった。これらの操作法は前報で述べた方法と全く同様であるのでここでは省略する(7,8,21)。蛋白質の染色には0.1%アミドブラック10B溶液を用い、リポプロテインの染色にはオイルレッドO溶液(メタノールに飽和にとかし、等量の20%トリクロール酢酸水溶液を加え、2~3日冷蔵庫に保護した後濾過する)を用いた。

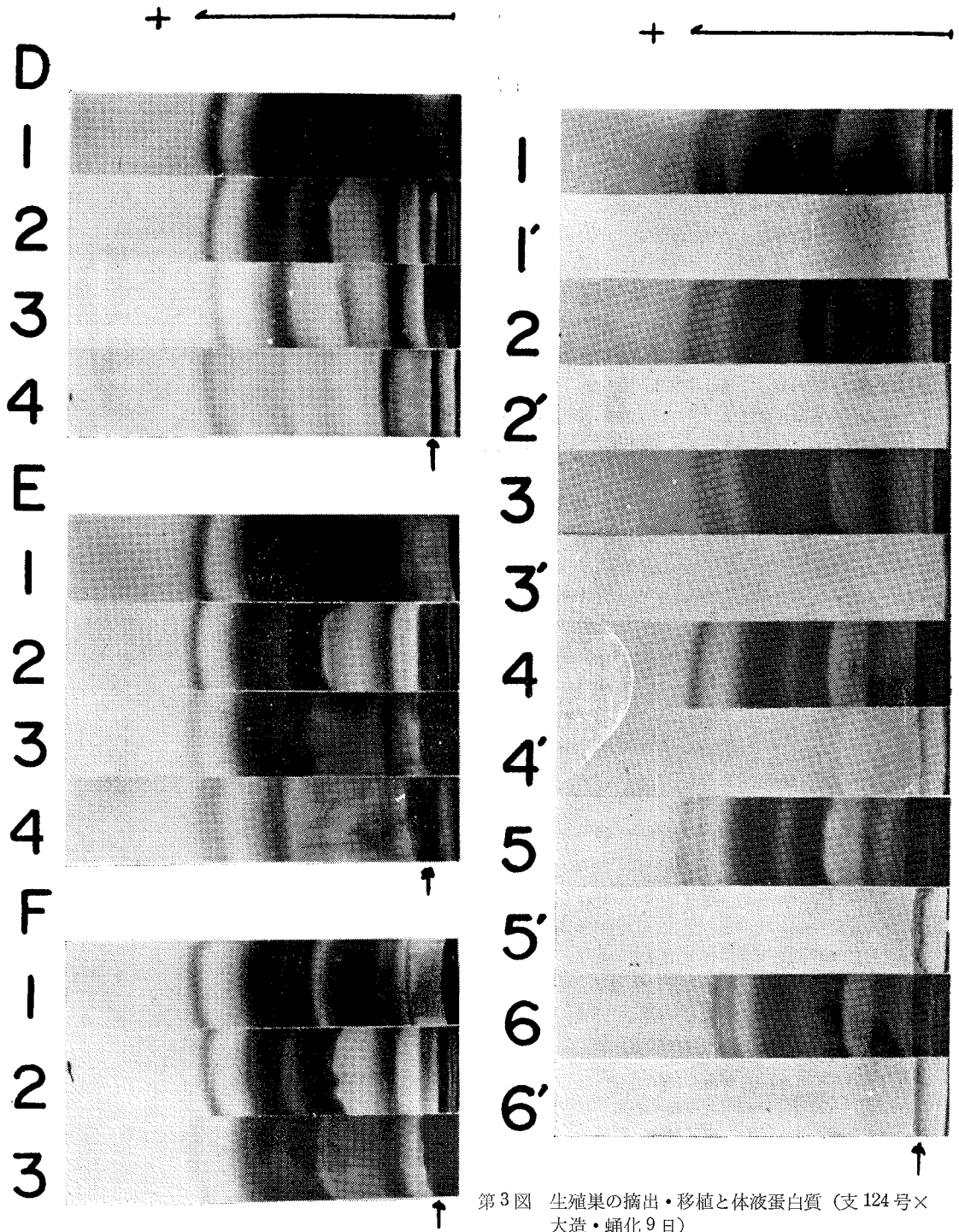
実 験 結 果

カイコ5令3日の幼虫を用いて、生殖巣の摘出ならびに移植を行ない、幼虫期から成虫期の体液蛋白質への影響についてディスク電気泳動法を用いて調べた。その結果は第1~4図に示すとおりである。大造雄の精巣摘出区(-TS区)ならびに精巣摘出したものに卵巣移植した区(-TS+OV区)の体液蛋白質の変動は処理から蛹化8日頃まで対照区(傷つけのみ)におけるその変動と殆んど差異が認められなかった(第1図)。大造雌においても卵巣摘出区(-OV区)と卵巣摘出したものに精巣移植した区(-OV+TS区)の体液蛋白質の変動は処理後蛹化4日目頃まで対照区のそれとほぼ同様な傾向を示した。その後、対照区では卵巣の発育が進むにつれて体液蛋白質の減少がみられ、それに伴い泳動像にも変化



第1図 生殖巣の摘出、移植と体液蛋白質(大造・雄)
 A:対照区 B:-TS区 C:-TS+OV区
 1:熟蚕期 2:蛹化4日 3:蛹化8日

が現われた。一方-OV区ならびに-OV+TS区においては、体液蛋白質の減少が殆んどみられなかった。特に雌で特異的に濃くなる泳動帯(矢印)で濃度が高くなった。このような現象は成虫期においても続いて認められた(第2図)。



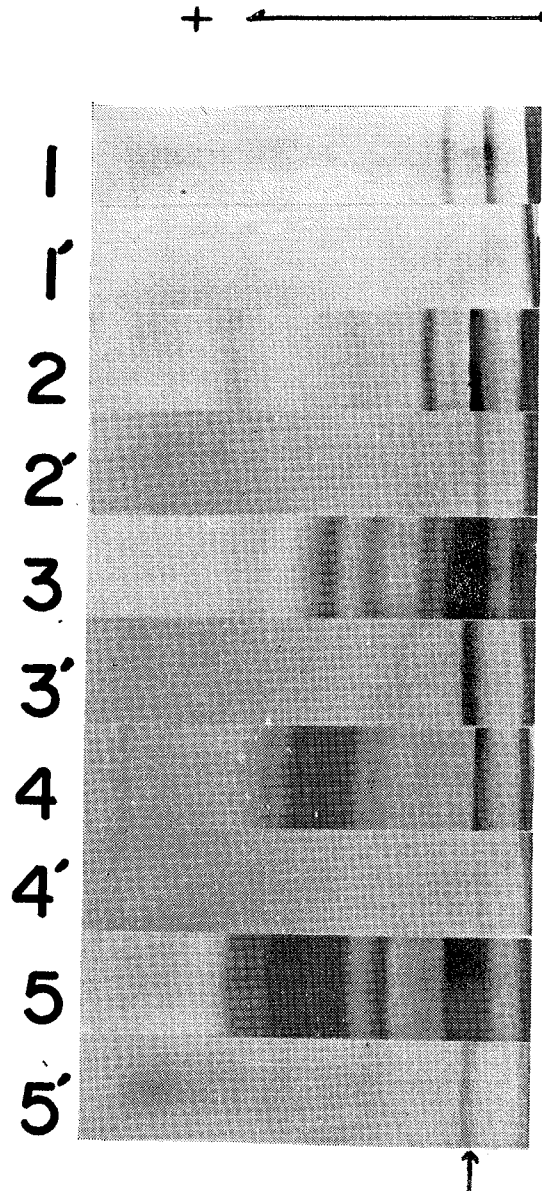
第2図 生殖巣の摘出・移植と体液蛋白質 (大造・雌)
 D : 対照区 E : -OV区 F : -OV+TS区
 1 : 熟蚕期 2 : 蛹化4日 3 : 蛹化8日 4 : 成虫

第3図 生殖巣の摘出・移植と体液蛋白質 (支 124号×大造・蛹化9日)
 1 : 対照区, 雄 3 : -TS+OV区 5 : -OV区
 2 : -TS区 4 : 対照区, 雌 6 : -OV+TS区
 'はリボ蛋白質染色

また、リポ蛋白質の泳動帯を調べることは、蛋白質の存在様式や生理的意義を考えるうえで重要であると思われるので、同一の試料を用いて実験を行ない、一方は蛋白質染色、他方はリポ染色をほどこして比較検討した。リポの方は濃度が淡いため非常に染まり難いので、2~3日染色液の中に入れた後脱色した。各処理区における蛹化9日後の蛹の体液蛋白質の染色結果を示すと第3図のようである。最も濃く染色したのは矢印の泳動帯で雌において特異的に濃く現われる蛋白質成分と一致した。その他矢印の泳動帯に近い2, 3の蛋白質もろくく染色された。雄蛹の体液蛋白質は一般にリポ蛋白質の濃度が低く、各処理区間でも差異は明らかでなかった。雌では雄に比べて一般に濃く、各処理区別では対照区に比べて-OV, -OV+TSの両区で特に矢印の泳動帯においてリポ蛋白質の染色が濃く現われ、蛋白質量と同様に、量的に多いことを示すものと考えられる。

さらに成虫期における体液蛋白質とリポ蛋白質について調べた結果は第4図に示すようである。雌成虫体液蛋白質と-OV区のそれとについて比べると、全般的に-OV区の蛋白質濃度が高く特に矢印の泳動帯において蛋白質とリポ蛋白質の濃度に著しい差がみられ-OV成虫体液にこの成分の多いことが明らかとなった。また、成虫の卵管内に形成されている卵の蛋白質についてみると、対照雌成虫卵蛋白質では8つの泳動帯がみられた(第4図・5)。これに関連して、雌蛹中期の体液蛋白質では同じく8つの泳動帯がみられた。しかし両者の泳動像には若干差異がみられた。すなわち対照区の体液で原点ちかくにみられたある種の泳動帯が卵ではみられず、逆に若干移動性の高い所に泳動帯が現われた。さらに、精巣を摘出した雄に移植した卵巣の発育は、正常雌の卵に比べて卵数ならびにその大きさが若干劣るようであった。また、卵色は対照成虫卵が黄色であるのに対して、-TS+OV区の成虫卵ではやや黄白色であった。この-TS+OV区の卵蛋白質を泳動した結果は第4図・4に示すとおりで、正常卵よりも全体的に蛋白質濃度が低い傾向がみられた。そして、その泳動パターンは殆んど同様であった。特に著しい濃度差のみられたのは、矢印の泳動帯であった。またこの泳動帯は雌に特異的に多く現われるもので、リポ蛋白質染色でもよく染まり、リポ蛋白質でもあることが明らかとなった。

上に述べたように-OV区の成虫体液蛋白質濃度は対照雌体液のそれより全般的に高かった。なかでも矢印の泳動帯の蛋白質成分が他の成分に比較して著しく多く現われた。このことはこの成分が主に卵巣にとり込まれる

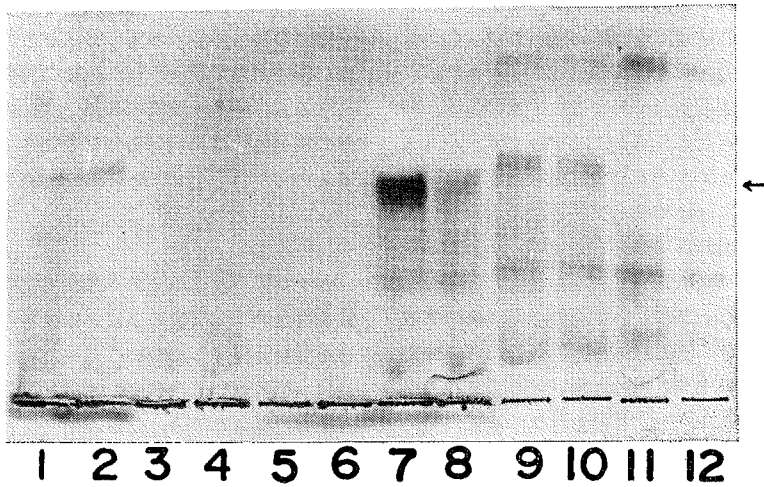


第4図 生殖巣の摘出、移植と蛋白質(支124号×大造・成虫期)

- 1 : -TS+OV成虫体液 4 : -TS+OV成虫卵
- 2 : 雌成虫体液 5 : 雌成虫卵
- 3 : -OV成虫体液 はりポ蛋白質染色

もので、他の組織に利用されないためとも考えられる。

つぎにアガロース・ゲル薄層電気泳動法によって、成虫体液蛋白質と卵の蛋白質との関連について調べた結果は第5図に示すとおりである。対照区の雌雄成虫体液蛋白質の泳動帯は陰極側に1本と陽極側にろくく2~3本



第5図 生殖巣の摘出、移植と蛋白質 (支124号×大造・成虫期)

1~2: 体液, 雄 9~10: 対照卵
 3~6: 体液, 雌 11~12: -TS+OV卵
 7~8: 体液, -OV雌

みられるのみで、その濃度は雌に比べて雄において高く、特に移動性の最も大きい泳動帯で若干濃く現われた。また、-OV区における体液蛋白質の泳動帯は陰極側に1本と陽極側に4本みられた。そしてその濃度は対照区雌のそれより高く、特に矢印の蛋白質成分では著しく高かった。

雌成虫卵の蛋白質では陽極側へ移動する5本の主泳動帯がみられ、成虫体液中にみられた陰極側へ移動する蛋白質成分はみられなかった。また陽極側へ移動する5本の泳動帯のうち4本の泳動帯は体液蛋白質と同じ移動性をもつ蛋白質であった。

このように-OV区成虫体液蛋白質濃度が対照雌成虫のそれより高いこと、体液と卵で多くの泳動帯が一致している事実などから、卵巣中にある蛋白質の多くの部分は体液からとり込まれたものであらうと考えられる。

つぎに精巣を摘出した雄に卵巣を移植し、発育した卵の蛋白質は泳動像において対照蚕のそれとほぼ同様な結果を示した。しかし矢印の泳動帯は殆んどみられず、逆に移動性の最も大きい泳動帯で若干濃く現われた。

考 察

カイコにおいては5令中期より体液蛋白質に雌雄間差がみられ、蛹期においても、幼虫期とは移動性が異なるが、雌雄で異なる泳動帯のあることが明らかになっている。しかしながら、これらの原因については明らかでない。

一方脂肪組織は体液蛋白質合成の重要な役割を演じていることは今までの研究から明らかである。

脂肪組織の蛋白質と体液の蛋白質との関連については、重松(1960)、Price(1966, 1967)、Price and Bosman(1966)などによって研究が行なわれ、体液蛋白質は脂肪組織で合成されることが明らかにされている。しかし Chippendale and Kilby(1969)は特定な蛋白質成分が脂肪組織に現われる前に体液に現われる事実から、体液蛋白質は脂肪組織ばかりでなく他の組織でも合成されていると述べている。

また、体液蛋白質と卵巣の発育に関連した研究は Telfer and Williams(1953)、Telfer(1954, 1960)、Telfer and Rutberg(1960)、orr(1964)、Loughton and West(1965)、Coles(1965)、江口ら(1966)、Bodnaryk and Morrison(1968)ならびに Scheurer(1969)などにより、種々の昆虫を用いて研究が行なわれ、体液中に雌特有の蛋白質の存在すること、ならびにこれらの蛋白質が卵巣内にとり込まれることが明らかにされている。

本実験でも雌の卵蛋白質の泳動帯はその体液蛋白質の多くの泳動帯と一致した。このことは卵巣に体液蛋白質の一部がとり込まれたことを示すものと思われる。また雄において精巣を摘出し卵巣移植を行なった区の卵の成長は対照区に比べて劣った。そしてその卵蛋白質は対照区卵蛋白質と比較して雌特異的蛋白質が非常に少なく、

その泳動帯がわづかにみられる程度であった。このことは雄の幼虫期ならびに蛹期に雌特異的蛋白質が少なかったことに関連するものと考えられる。

一方、カイコの5令期幼虫における生殖巣の摘出、移植が体液蛋白質に如何なる影響を及ぼすかアガロース・ゲルならびにアクリルアミド・ゲル電気泳動により研究した。その結果、雄においては対照区と処理区において体液蛋白質の泳動像において殆んど差がみられなかった。雌においては対照区に比べて卵巣を摘出した区と卵巣摘出後精巣を移植した区において蛹の中期以後、体液蛋白質濃度が高くなり、特に雌に特異的に現われる泳動帯における濃度が著しく高く現われた。どのような差異は成虫期においてもみられた。このような体液蛋白質の増加は、本来卵巣にとり込まれるべき蛋白質が卵巣を摘出したためそのまま体液中に残ったためであらう。また、対照雌卵蛋白質中にはこれらと同じ移動性をもつ泳動帯が濃く認められた。このことは逆に卵巣に蛋白質が選択的にとり込まれることを示唆するものと思われる。

和久・住本(1969)は変態中のカイコの脂肪組織細胞の変化を、特に成虫脂肪組織の起源と関連して光顕・電顕的方法により研究し、成虫脂肪組織は幼虫の脂肪組織細胞のうち蛹期の組織破壊に耐えて生き残ったものから作られるとした。そして雌の脂肪組織細胞は蛋白顆粒が多く殆んど破壊されてしまうが、雄の細胞は顆粒が少なく、生残るものが多いことを報告している。

このように体液蛋白質は諸組織や卵巣にとり込まれる。雄についてみると、一つには脂肪組織の崩壊の少ないこと、また-TS+OV区における卵が小さく、かつ卵中の蛋白質濃度の低いことなどから、体液蛋白質濃度の変動が少なかったものと考えられる。そして雌では脂肪組織の崩壊も著しく、体液中に蛋白質が多く放出される。しかるに、卵巣摘出区では本来とり込まれるべき卵巣がなく、そのまま多く体液蛋白質が残ったものと考えられる。また-OV+TS区において-OV区と殆んど同様な傾向がみられたのは、精巣自体それだけの蛋白質を吸収する能力がないために起きたものと思われる。

また、蛹期ならびに成虫期においてオイルレッドOによるリポ蛋白質の染色を行なった結果、体液特に卵巣摘出を行なった体液中の雌特異的蛋白質においてとくによく染色し、雌特異的蛋白質に多く存在することが明らかとなった。そしてこれが正常卵蛋白質にも多く存在することが明らかとなった。このことは雌特異的蛋白質はかなりのリポを含んでおり、卵にとり込まれることを示す。これらの生理的意義については今後の研究にまか

い。

以上のように多くの昆虫で体液蛋白質はその多くの部分が脂肪組織で合成され、体液に放出される。そしてそれらの蛋白質が選択的に卵蛋白質に蓄積される。また卵巣の摘出は体液蛋白質濃度を増加させるものと考えられる。

摘 要

カイコにおける雌雄の5令幼虫生殖巣の摘出、移植実験を行ない、生殖巣の発育が体液蛋白質の成分に如何なる影響を及ぼすかについて調べた。

1. 雄においては精巣の摘出ならびに精巣摘出後卵巣移植を行なった場合、体液蛋白質に及ぼす影響は殆んどみられなかった。

2. 雌では卵巣の摘出ならびに卵巣摘出後精巣移植を行なった場合、蛹化4日目頃までは体液蛋白質に変化がみられなかった。その後対照雌においては体液蛋白質が減少するにも拘らず、処理雌においては変化少なく特に雌特異的蛋白質が量的に著しく増大した。この現象は成虫期においてもみられた。

3. 蛹期ならびに成虫期の蛋白質のリポ染色の結果、雌特異的蛋白質は濃く染色された。この特異的蛋白質は特に雌の卵巣摘出処理を行なった体液中には多く現われた。また卵蛋白質中の雌特異的蛋白質も濃く染色された。

4. 卵巣蛋白質には体液蛋白質と同じ泳動性を示す成分が多く見出された。また精巣摘出後卵巣移植を行なった場合、発育した卵の蛋白質は対照卵蛋白質に比べて雌特異的蛋白質が著しく僅少であった。

5. 以上の事実から雌特異的蛋白質は卵巣で生成されるのではなく、雌幼虫体内で合成された雌特異的蛋白質が5令末期頃から蛹期にかけて卵巣へ移行するものと考えられた。

最後に、本研究に対して御指導いただいた東京大学農学部教授有賀久雄博士、吉武成美博士ならびに鹿児島大学農学部橋口勉博士に対して深く感謝の意を表す。

引 用 文 献

1. 鮎沢啓夫・小林勝利・阿部文子：日蚕雑，29，197(1960)
2. Bodnaryk, R. P. and Morrison, P. E. : *J. Insect Physiol.*, 14, 1141 (1968)
3. Chippendale, G. M. and Kilby, A. B. : *J. Insect Physiol.*, 15, 905 (1969)

4. Coles, G. C. : *J. Exp. Biol.*, **43**, 425 (1965)
5. 土井良宏 : 九大農学芸雑, **23**, 205 (1968)
6. 江口正治・政山享・西村允子 : 日蚕雑, **35**, 435 (1966)
7. 小原隆三 : 応動昆, **11**, 71 (1967)
8. 小原隆三・河合孝 : 鳥農学報, **21**, 18 (1969)
9. Loughton, B. G. and West, A. S. : *J. Insect Physiol.*, **11**, 919 (1965)
10. Orr, C. W. M. : *J. Insect Physiol.*, **10**, 53 (1964)
11. Price, G. M. : *J. Insect Physiol.*, **12**, 731 (1966)
12. Price, G. M. : *J. Insect Physiol.*, **13**, 69 (1967)
13. Price, G. M. and Bosman, T. : *J. Insect Physiol.*, **12**, 741 (1966)
14. Scheurer, R. : *J. Insect Physiol.*, **15**, 1673 (1969)
15. 重松孟 : 蚕試報, **16**, 141 (1960)
16. Telfer, W. H. : *J. Gen. Physiol.*, **37**, 539 (1954)
17. Telfer, W. H. : *Biol. Bull.*, **118**, 338 (1960)
18. Telfer, W. H. and Rutberg, L. D. : *Biol. Bull.*, **118**, 352 (1960)
19. Telfer, W. H. and Williams, C. M. : *J. Gen. Physiol.*, **36**, 389 (1953)
20. 和久義夫・住本憲一 : 京都工織大繊維学報, **5**, 256 (1969)
21. 渡部仁・小原隆三・保坂政子 : 日蚕雑, **37**, 319 (1968)