

# カイコの発育と変態に伴う体液蛋白の ディスク電気泳動像の変動

小 原 隆 三・河 合 孝

(鳥取大学農学部応用昆虫学研究室)

昭和43年9月30日受理

## Disc-electrophoresis of Haemolymph Protein during Development and Metamorphosis in the Silkworm, *Bombyx mori* L.

Ryuzo KOBARA and Takashi KAWAI

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

The proteins of haemolymph obtained from the 3rd-5th instar larvae, pupae and adults were resolved into 13 fractions by means of acrylamide gel disc-electrophoresis. In the larval stage, the concentration of fraction was low in the earlier stage of each instar but increased to the same extent as the larval development in the same instar. Particularly, the concentration of fraction showed a marked increase after the middle stage of the 5th instar, but the specific fraction could be found to decrease strikingly in the concentration from the last stage of spinning larvae to pupation. The separated fractions had a tendency to be large in number, when each fraction was high in the concentration. In the pupal stage, there was little change in the number of fractions and the concentration of them but the later showed a much more remarkable decrease than the former from the last stage of the pupa to its emergence.

(Received September 30, 1968)

カイコの体液蛋白に関してはろ紙電気泳動法によって3成分が認められ、発育のステージによって泳動像の異なることが報告されている<sup>(1,2,3,12)</sup>。また、チゼリウス電気泳動法によれば4あるいは5成分からなることも報告されている<sup>(10,15)</sup>。さらに、Nakasone and Kobayashi (1965)<sup>(13)</sup> はアクリルアミドゲル電気泳動法によって体液蛋白として13成分を認め、後胚子発育と成虫化に伴って泳動像が変化することを報告し、土井良ら(1967)<sup>(7)</sup> も変態に伴う泳動像の変動について報告している。小原(1967)<sup>(11)</sup> はさきにアクリルアミドを支持体としたディスク電気泳動法によりカイコの体液蛋白の研究を行い9つの蛋白成分を識別し、しかも、雌雄差がみられる特定の泳動帯のあることを報告した。

今回は、カイコの発育に伴う体液蛋白の電気泳動像の変動についてアクリルアミドゲルディスク電気泳動法を用いて研究した。その結果、体液蛋白は幼虫の発育、脱皮、蛹化ならびに成虫化に伴って異なった電気泳動像を示すことが認められた。以下その結果について報告す

る。

### 材料および方法

材料として日124×支124ならびに支124×日124の2系統を用い、実験は主として1967年晩秋蚕期に行なった。

体液の採取は3令起蚕期から成虫期に至る間、毎日個体別に0.02mlを毛細管にとり泳動に供した。ただし3令幼虫期ならびに成虫期において一個体から体液量が十分得られなかった場合は2, 3個体から0.02mlになるように混合で採取し供試した。体液の採取は幼虫ならびに蛹では背面に針をさしてとり、蛾では翅の基部を切り取り、かるく体をおさえて採血した。

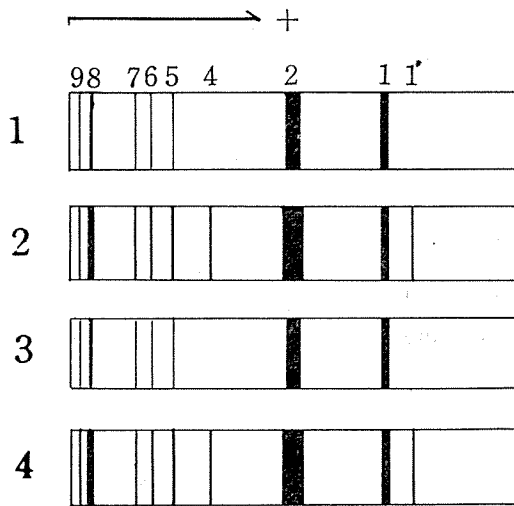
ディスク電気泳動法は支持体としてアクリルアミドを用い、泳動方法はWatanabe (1968)の方法に準じて行なったのでこゝでは省略する。ゲルの染色にはアミドブラック10Bを用い、過染された部分の脱色ならびに保存には7%酢酸液を用いた。

# 実験結果

カイコの体液蛋白の発育に伴う泳動像の変化をアクリルアミドゲルディスク電気泳動法によって調べた結果を示すと次のとおりである。

3令起蚕期から成虫期に至る間に泳動性のそれぞれ異なるバンドが少なくとも13本認められ、各ステージにおいて特徴のある泳動像が得られた。結果をまとめるに当り便宜的に最も移動性の高い泳動帯から移動性の低いものへ順次番号をつけて蛋白分画を表示した。

幼虫期：3令および4令幼虫における体液蛋白の泳動の結果は第1図と図版1に示すとおりである。その変化

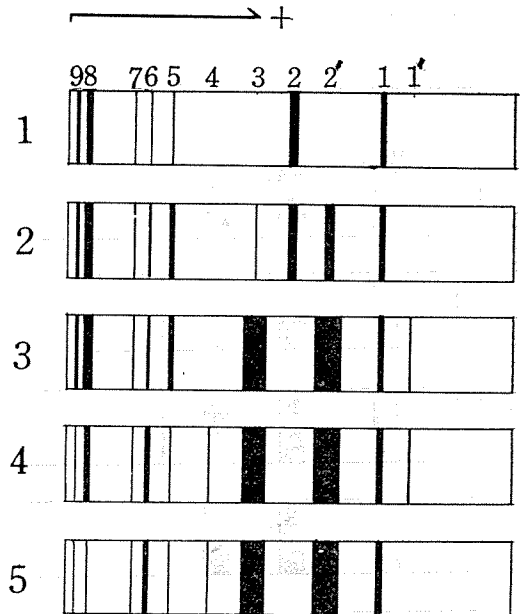


第1図 カイコ3、4令幼虫における体液蛋白の泳動模式図

1. 3令起蚕期。2. 3令眠中。
3. 4令起蚕期。4. 4令眠中。

は3令幼虫と4令幼虫でほぼ類似した傾向を示した。すなわち、起蚕期ではバンド1、2、5、6、7、8、9の7つの蛋白成分がみられ、そのうち、バンド1、2で最も濃度が高く、ついでバンド8、9が高く、その他は濃度が低かった。その後、発育に伴って全体的にどのバンドも濃度をましてきた。そして各令の中期からバンド1'が新しく現われ始め、さらに眠期にバンド4がはっきりみられるようになった。結局、眠期には合計9本のバンドがみられ、その濃度も高くなった。また、バンド1、2は4令期に比し3令期でやや濃い傾向がみられた。

5令幼虫における泳動結果は第2図と図版2に示すとおりである。5令起蚕期では3、4令期と同じようにバンド1'と4がみられず、7本のバンドのみ認められ



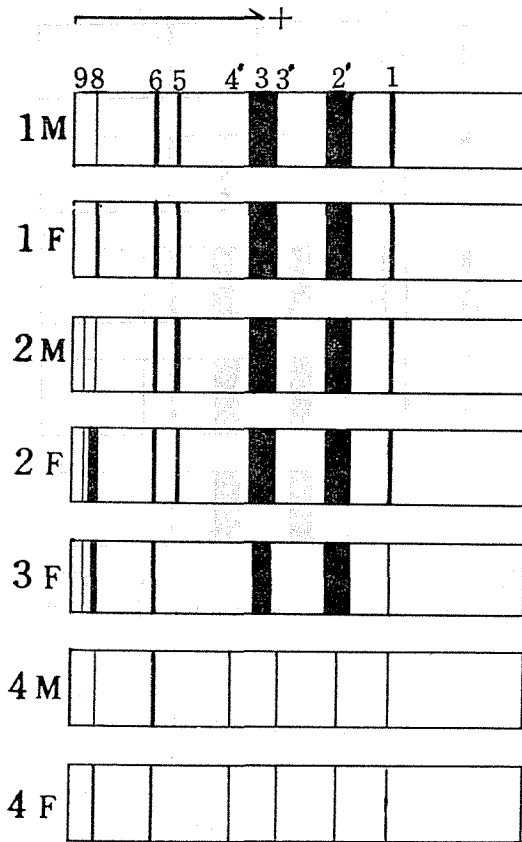
第2図 カイコ5令幼虫における体液蛋白の泳動模式図

1. 5令起蚕期。2. 5令4日。
3. 5令8日(熟蚕期)。4. 吐糸中。5. 吐糸終了期。

た。また、各バンドも全体的に淡かった。その後、発育に伴ってバンドの数や濃度において特異的な変化がみられた。すなわち、5令3日目頃からバンド2のテーリングがみられるようになり4日目に至りやゝ移動性の大きいバンド2'が現われて2本よりなるようになった。ついで、バンド2は消え、それにつれてバンド2'が徐々に濃度をまして行った。つぎに、これまでみられなかったバンド3が5令4日目頃よりあらわれ始め急速に濃度を増し、バンド2'と同様に熟蚕期に最大濃度に達し、その後同じような濃度を保っていた。また、バンド1'と4は3、4眠期と同じく熟蚕期から吐糸期にうすく認められた。バンド5、6、7は熟蚕期まで徐々に濃度をまして来たが、この頃から吐糸期にかけてバンド7が淡くなり殆んど識別されなくなった。しかし吐糸期にバンド6は若干濃度をまして来た。そして濃いバンド8、9のうちバンド9は吐糸期にやゝ淡くなり、その後吐糸終了期になって両バンドとも急に淡くなって殆んど認められなくなった。このバンド9は前報<sup>(11)</sup>で報告したように5令中期より雌では雄より濃くなり性差のみられるバンドである。このように、5令期では3～4日頃から新しいバンドが出現し、この濃度も急に高くなって来る。そして、吐糸終了期に特定の幾つかのバンドが急に消失

することが明らかとなった。

蛹および成虫期：蛹期ならびに成虫期についてみると第3図と図版3のとおりである。蛹期間中のバンドの



第3図 カイコ蛹ならびに蛾における体液蛋白の泳動模式図

1. 化蛹当日。2. 化蛹2日目。3. 化蛹9日目（羽化前3日）。4. 成虫期。Mは雄，Fは雌をあらわす。

数や濃度における変化は比較的少なかった。蛹化直後バンド1, 2', 3, 5, 6, 8の6つの蛋白成分がみられた。そして、蛹化2日目頃より、吐糸終了期に殆ど消失していたバンド8, 9は若干濃度を増してはっきり認められるようになった。また、バンド5も若干濃度を増して来た。特に、バンド8は雌蛹において雄蛹より濃度が高く性差のみられるバンドである<sup>(11)</sup>。その後、化蛹7日目頃よりバンド5が、続いて9日目頃よりバンド3がうすくなり始めた。ついで、10日目頃（羽化2日前）よりバンド6を除いて全般的に各バンドとも非常に淡くなった。この時期にバンド3は消失し、3'と4'の2本のバンドが現われた。

成虫期においてはバンド1, 2', 3', 4', 6, 8, 9の7つの蛋白成分がみられ、バンド6と8がやや濃く、他のバンドは皆淡かった。特に、雄ではバンド6が雌より、雌ではバンド8が雄よりそれぞれ濃く現われた。このように、体液蛋白の変動は蛹期間では少なく、成虫化に伴って非常に変動することが明らかとなった。

#### 考 察

以上述べたように、幼虫期の体液蛋白においては起蚕期の濃度は低く、バンドの数も少ないが、発育に伴って濃度、バンド数とも増加した。特に、5令中期からは濃度や泳動のパターンにおける変動が著しかった。そして吐糸終了期から蛹化にかけてバンド8, 9が急に消失したが、蛹期になって若干回復し、その後の変動は比較的少なく、続いて起る成虫化に伴って急速に各バンドとも淡くなることが明らかとなった。

これまでカイコの経過に伴う体液蛋白量の変化については屈折や比重の測定ならびに Lowry の方法などによる蛋白量の測定が行なわれた。その結果、幼虫期では起蚕期で蛋白量が少なく、発育と共にその量を増し眠期に最大となる。そして、5令期では3, 4日目頃より急速にその量を増し、熟蚕期から吐糸期中最大となり、以後、蛹期間中は徐々に減少し、さらに、成虫化に伴って急速に減少することが知られている<sup>(9,13,14)</sup>。本実験の泳動像からも蛋白量の発育および変態に伴う変動については同様な結果が得られた。

また、Nakasone and Kobayashi (1965)<sup>(13)</sup> はアクリルアミドゲル電気泳動法によりカイコの3令期より成虫期に至る間の体液蛋白の泳動像の変化を調べた結果、3, 4令期の幼虫体液で6成分の蛋白が存在し、眠期中には「F」成分が多いこと、5令期には8~10成分を認めた。そして、吐糸終了から蛹化に至るまでに明瞭な泳動像の変化があり、蛹期中の変化は比較的少なく、羽化前から成虫化にかけて蛹期とは明らかに異なる泳動像を認めている。また、Chippendall G.M. ら (1966)<sup>(6)</sup> は European corn borer を用い前蛹期と休眠期の体液蛋白の変動をアクリルアミドゲル電気泳動法により調べ、未熟幼虫から成熟幼虫への分化は11~13日を要するが、その間に蛋白量ならびに泳動像が著しく変動することを報告し、体液蛋白の量的ならびに質的变化が前蛹分化始めの生理的变化を反映するものであろうと述べている。一方、Chen P. S. ら (1966)<sup>(4,5)</sup> はアクリルアミドゲル電気泳動法により Blowfly の体液蛋白について調べ、発育、蛹化、成虫化に伴い泳動パターンに特徴ある変化のあることを認めている。さらに、Blowfly

の体液蛋白の合成と崩壊についてアイソトープを用いて研究した。まず、変態中の蛋白の崩壊については $C^{14}$ でラベルした体液蛋白を注射することにより成虫組織への幼虫体液蛋白の直接的利用を示唆している。また、 $C^{14}$ でラベルしたクロレラ蛋白の加水分解物の注射により体液蛋白へのアミノ酸のとり込みは幼虫の成長期に最も早いことを報告している。

本実験において得られたカイコの各發育期の体液蛋白の電気泳動像はNakasoneらの得た泳動像と全く同じではない。これは、泳動条件の異なることによるためと考えられる。しかしながら、体液蛋白の泳動像が發育、脱皮、蛹化および成虫化に伴って著しい変動を示すことは同じように明らかになった。このような体液蛋白の量的および質的变化はChen P. S. らのいうように幼虫の成長期にはアミノ酸のとり込みによる体液蛋白量の増加が、そして、脱皮、変態時には特定の体液蛋白が新組織へ直接的にとり込まれることがそれぞれ関連をもっともらされるものであろう。

### 総 括

カイコの發育、脱皮、変態に伴う体液蛋白の変動をアクリルアミドを支持体としたディスク電気泳動法で調べ、次の結果を得た。

1. 3, 4令期幼虫体液には起蚕で7本のバンドがみられ、發育とともに各バンドの濃度が増しバンド数もふえ、眠期には9本のバンドがみられた。

2. 5令期幼虫では起蚕で7本のバンドが認められた。その後、新しくバンド2', 3'があらわれ、そして、バンド2は消失し、熟蚕期にはバンド1', 4'も現われて合計10本のバンドが認められた。各バンドの濃度も3, 4日頃より急に高くなり、熟蚕期頃最高に達した。その後、吐糸終了期にはバンド, 8, 9が殆んど消失してしまった。

3. 蛹期中における変化は比較的少なかった。

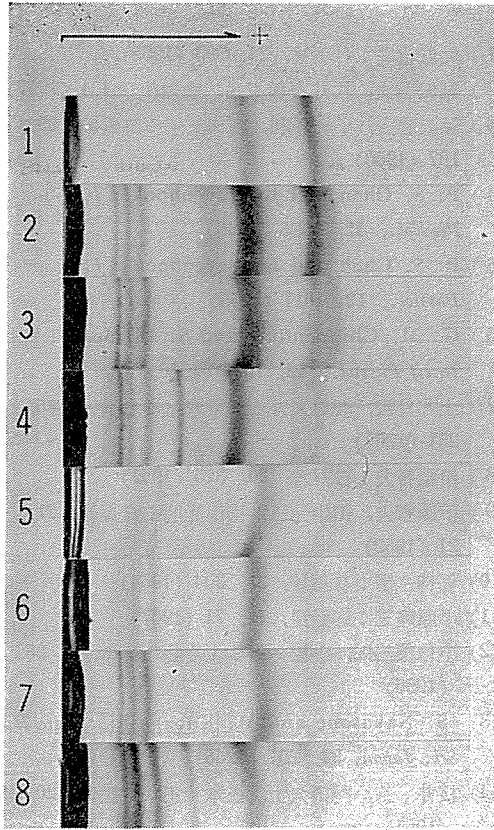
4. 羽化2~3日前から各バンドとも濃度が非常に低くなり始め、成虫期ではバンド6, 8を除いて大変低くなった。

5. 以上の結果からカイコの体液蛋白は幼虫の發育、脱皮、蛹化ならびに成虫化に伴って量的ならびに質的に著しい変動を示すことが明らかになった。

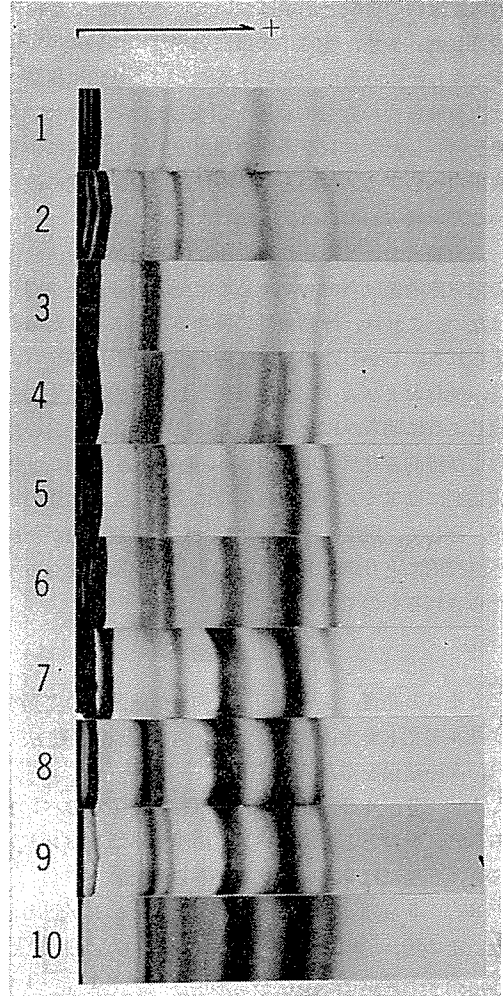
最後に、本研究に対して、終始御指導いただいた東京大学農学部有賀久雄教授、吉武成美助教授ならびに渡部仁博士に対して厚く感謝の意を表する。

### 文 献

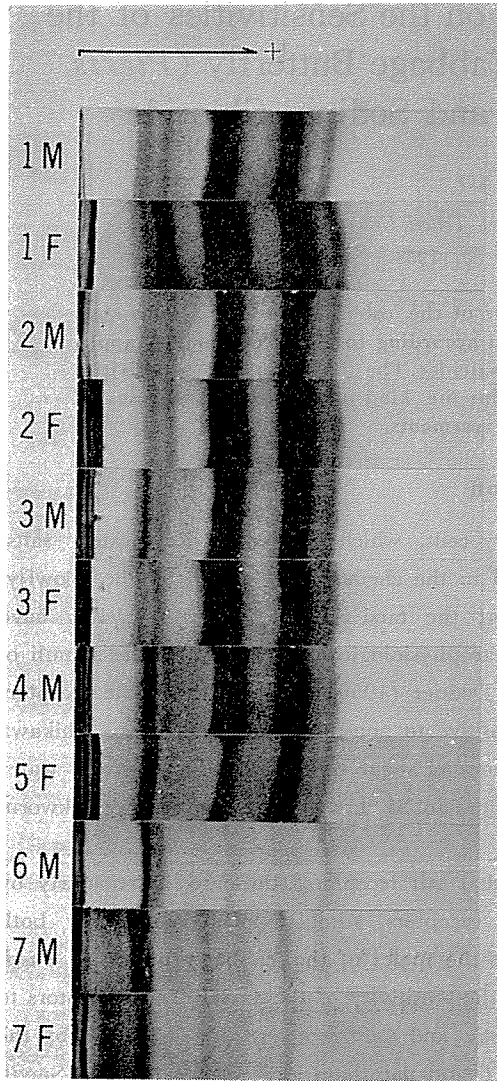
- (1) 鮎沢啓夫：日蚕雑，24, 393 (1955)
- (2) 鮎沢啓夫，村井貞彰：生物物理化学，4, 4 (1957)
- (3) 鮎沢啓夫，小林勝利，阿部文子：日蚕雑，29, 197 (1960)
- (4) P. S. Chen and L. Levenbook : *J. Insect Physiol.*, 12, 1595 (1966)
- (5) P. S. Chen and L. Levenbook : *J. Insect Physiol.*, 12, 1611 (1966)
- (6) G. M. Chippendale and S. D. Beck : *J. Insect Physiol.*, 12, 1629 (1966)
- (7) 土井良宏，坂口文吾，築紫春生：日蚕雑，36, 251 (1967)
- (8) 伊藤智夫：日蚕雑，20, 325 (1951)
- (9) 伊藤智夫，田中元三，柳田光明：日蚕雑，21, 21 (1952)
- (10) 稲神 馨：日蚕雑，23, 304 (1954)
- (11) 小原隆三：応動昆，11, 71 (1967)
- (12) 小林茂三郎，小松一信：生物物理化学，3, 28 (1956)
- (13) S. Nakasone and M. Kobayashi : *Sericult. Sci. Japan*, 34, 257 (1965)
- (14) 桜井 基，門田久士，松本 正：日蚕雑，20, 95 (1951)
- (15) 佐々木周郁，小田純子：日蚕雑，24, 333 (1955)
- (16) H. Watanabe: *Appl. Ent. Zool.*, 3, 74 (1968)



図版1 カイコ3, 4令の体液蛋白の泳動像  
 1~4:それぞれ3令起蚕期, 2日, 3日, 眠中。  
 5~8:それぞれ4令起蚕期, 2日, 3日, 眠中。



図版2 カイコ5令期の体液蛋白の泳動像  
 1~6:5令起蚕期後の日数。7:熟蚕期。  
 8:吐糸中。9, 10:吐糸終了から化蛹まで。



図版 3 カイコの蛹化から成虫期に至る体液蛋白の泳動像

1 : 化蛹当日。2 : 化蛹後 2 日。3 : 化蛹後 4 日。  
4 : 化蛹後 6 日。5 : 化蛹後 9 日。6 : 化蛹後 10 日。  
7 : 成虫期。M は雄, F は雌をあらわす。