

変態に伴うカイコの体液蛋白の変動

土井良, 宏
九州大学農学部

<https://doi.org/10.15017/23019>

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 23 (4), pp.205-214, 1968-09. 九州大学農学部
バージョン：
権利関係：

変態に伴うカイコの体液蛋白の変動

土 井 良 宏

Developmental and sexual differences of blood proteins in the silkworm, *Bombyx mori*

Hiroshi Doira

昆虫体液蛋白の組成を調べ、変態との関連のもとにその変動を把握しようとする試みは、すでにかなり多く、また広く行なわれてきている (Telfer, W. H. *et al.*, 1953; Stephen, W. P. *et al.*, 1957; Loughton, B. G. *et al.*, 1965; ほか)。そのうちで電気泳動法は免疫学的手法とともに有力な探究方法として利用されてきた。しかし濾紙あるいは Tiselius 法などによる従来の泳動手段では、分離像に不十分な点が多いと言わざるを得ない。近年 acrylamide gel を支持体とする電気泳動法が開発され (Raymond, S. *et al.*, 1959; Antoine, B., 1962; 守屋, 1964; 荻田, 1965)、その分離能が極めて優秀であることから各方面に広く利用されるにいたっている。このゲルを用いて Nakasone and Kobayashi (1965) はカイコの 3 令から蛾に至る間の各時期における体液蛋白の組成を調べ、蛋白成分が変態および发育経過に伴って変動することを報じた。その後、江口ら (1966) は前蛹期に、小原 (1967) は 5 令期および蛹期に、体液蛋白に雌雄差が観察されることを報じている。これらの報告にみられる泳動像は、従来の濾紙電気泳動などによるものと比較した場合、格段の鮮明さではあるが、まだ各成分間の分離には改善の余地も大きいようである。また 1, 2 令期における体液の蛋白組成に関しては未だ報告された事例をみない。

著者はカイコにおける遺伝子作用発現の発生段階による変動を追究する目的で実験を進めているが、まずその第 1 段階として 1 令期から成虫に至る間で体液の蛋白組成の変動を調べ、既報された結果にみられない極めて良好な泳動像を得ることに成功し、蛋白成分の発生段階による変動、雌雄による相異を明確にし得たのでここに報告する。

本文に入るに先立ち、有益な御教示を賜った九州大学名誉教授林楨二郎先生に深甚の謝意を表す。また

懇篤なる指導と校閲の労を執られた九州大学農学部筑紫春生教授、坂口文吾助教授に拝謝する。

材料および方法

用いた系統は九大農学部蚕学教室に 1924 年から維持保存されている p 22 系統 (日本錦, 日本種 1 化) である。1 令盛食期から蛾に至る間の各時期において、1 令期は 20 頭を、2 令期は 10 頭を 1 群とし、3 令期以降は個別別に、毛管を用いて採血した。一部は直ちに分析に供したが、比較の都合上、体液の大部分は -25°C に凍結保存して用いた (保存が余り長期間に亘らない限りは凍結の影響は認められない)。

泳動に先立ち、4 令起蚕から蛾に至る間の体液蛋白濃度の変動を調べた。蛋白定量は Lowry の方法によって発色させ、牛血清 albumin 量に換算した。

泳動は acrylamide gel の薄層平板を用いる水平法によつたが、ゲルの大きさは $20.0 \times 14.0 \times 0.2 \text{ cm}$ である。ゲル作成にあつては標準的には次の試薬溶液を A : B : C = 2 : 1 : 1 の割合に混じて調製した。

A 液	{	Citric acid	0.273 g
		Tris (hydroxymethyl) aminomethane	2.302 g
		Acrylamide	47.5 g
		N, N'-methylene bis acrylamide	2.5 g
B 液	{	H ₂ O	500 ml
		DMAPN	0.5 ml
C 液	{	H ₂ O	50 ml
		Ammonium persulfate	0.25 g

試料は $8 \times 1.5 \text{ mm}$ の小濾紙片に吸着させ、これをゲルの一端から 5 cm の所に垂直に挿入した。泳動用緩衝液には 0.3M Borate-0.05N NaOH, pH 8.2 を用い 2~3 mA/cm の定電流で 1.5~4 時間、 $5 \sim 10^{\circ}\text{C}$ で泳動した。なお、ゲルならびに緩衝液の組成、電流強

度の僅かな変化によつても分離像に相当の変化がみられるので、比較する材料あるいは成分によつて最も適切な条件を選んで泳動した。

泳動後 0.5% amidoblack 10-B 溶液 (メタノール 5 : 水 5 : 氷醋酸 1) で約 20 分間染色し、過剰の色素を 5% 醋酸液で脱色した。脱色後、泳動ゲルを 2 枚のセロハン紙に包み乾燥、フィルム化して明日香工業製濃度計 OZ-82 型により波長 610 m μ のフィルターを用いてデンストメトリーを行なつた。

実験結果

4 令起蚕から蛾に至る間の各時期で、体液蛋白濃度を測定した結果を Fig. 1 に示す。

蛋白濃度は幼虫期では令が進むにつれ、また同一令期中では経過が進むにつれて増大する。しかして眠中に最大となり、次令起蚕時には低下する。終令では熟蚕期に最大となり、吐糸中に漸減するが、化蛹当日にはやや高くなる。蛹期間中は経過に伴つて減少し、化蛾前日にいたりやや高くなるが、成虫では再び低下する。

次に幼虫各令の盛食期、蛹 (複眼着色時期)、成虫 (化蛾当日) の体液蛋白の電気泳動像を Fig. 2 に示す。これを概括的にみると、幼虫期間では 4 令期を境

にして 1~3 令の稚蚕期と 5 令壮蚕期とでは蛋白泳動像に大きな変化がみられるが、壮蚕と蛹とは大差ない。成虫では蛹期にみられた主要蛋白成分の殆んどが減少、消失し痕跡的に残存するばかりとなるが、特異的に増大する易動度の小さい 1 成分が極めて顕著である。なお、Fig. 2 a には越冬卵 5 粒に少量の 1/20 M phosphate 緩衝液 (pH 7.2) を加えて磨砕したものを同時に泳動して得られた像をも示した。越冬卵の蛋白成分は稚蚕期の体液蛋白組成よりも、むしろ 5 令壮蚕~蛹期 (特に雌蛹) における体液の蛋白組成との類似性が高い。これらの蛋白組成を比較する便宜上、1 令から成虫までの体液蛋白泳動像を Fig. 2 a について模式的に示せば Fig. 3 の如くなる。

1 令期における体液の主要蛋白成分は、第 11, 13 グループであり、第 18, 21 泳動帯もかなり顕著である。特に第 18 に相当するものは他の時期には見出されない。泳動帯第 11 および第 21 は 2, 3 令期においても主要成分であり、4 令期以降では消失あるいは減少して微量成分となる。したがつてこれらは 1 令期の第 18 あるいは第 13 成分などと共に稚蚕期蛋白とすることができる。

壮蚕期における主要成分、第 26 泳動帯は 2 令期から判然と認められるようになり、令を重ねるごとに増

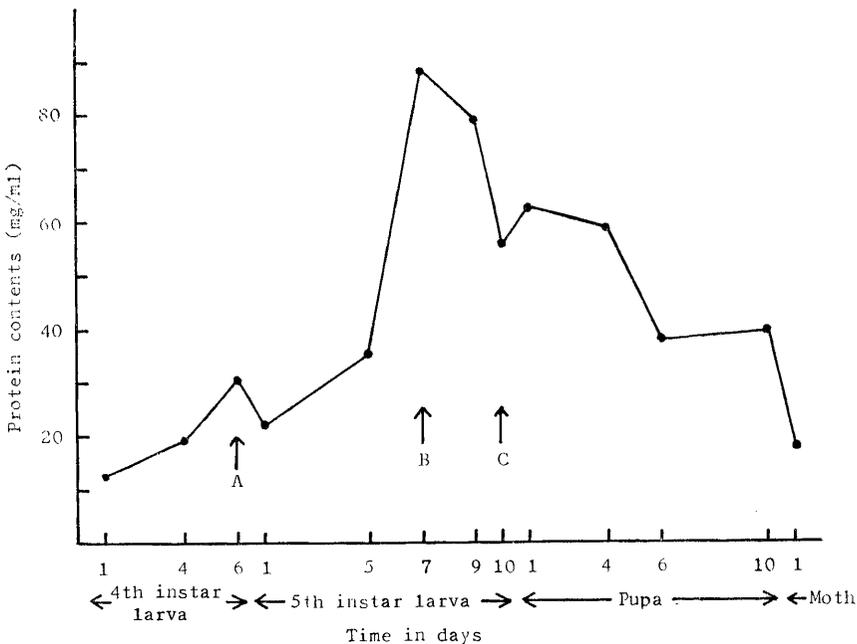


Fig. 1. Changes of protein contents in blood of the silkworm during the fourth larval instar to imaginal stage. A: fourth moulting stage, B: matured larva, C: pre-pupa.

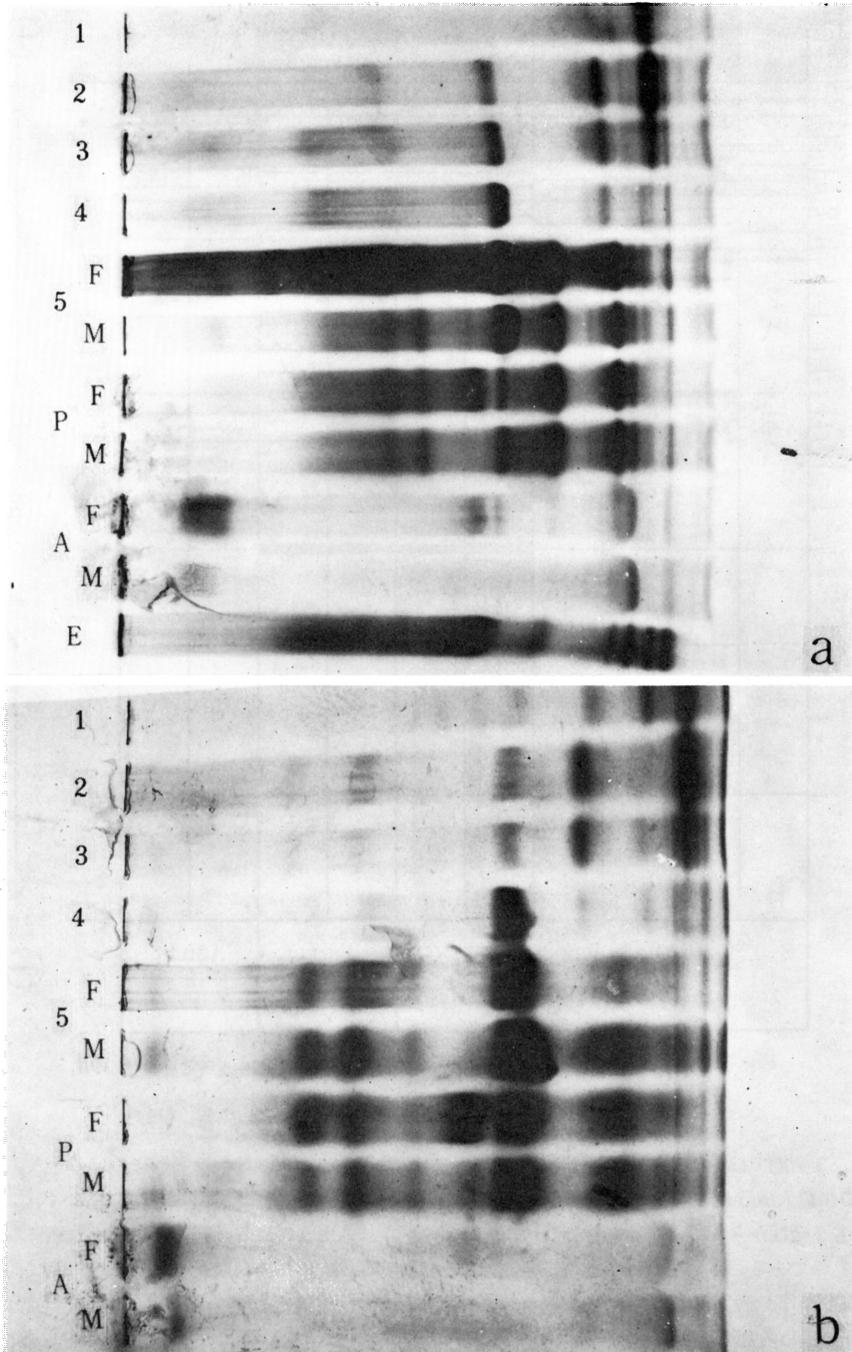


Fig. 2. Representative acrylamide gel electropherograms of silkworm blood proteins. Blood samples were collected from larvae, fully grown at each instar, pupa at middle stage, and adult moth immediately after emergence. Electrophoretic run was performed at constant current of a) 3mA/cm and b) 2.5mA/cm respectively. Gels were stained with amidoblack 10-B. Numbers indicate corresponding larval instars. P: pupa, A: adult moth, E: hibernating egg, F: female, M: male.

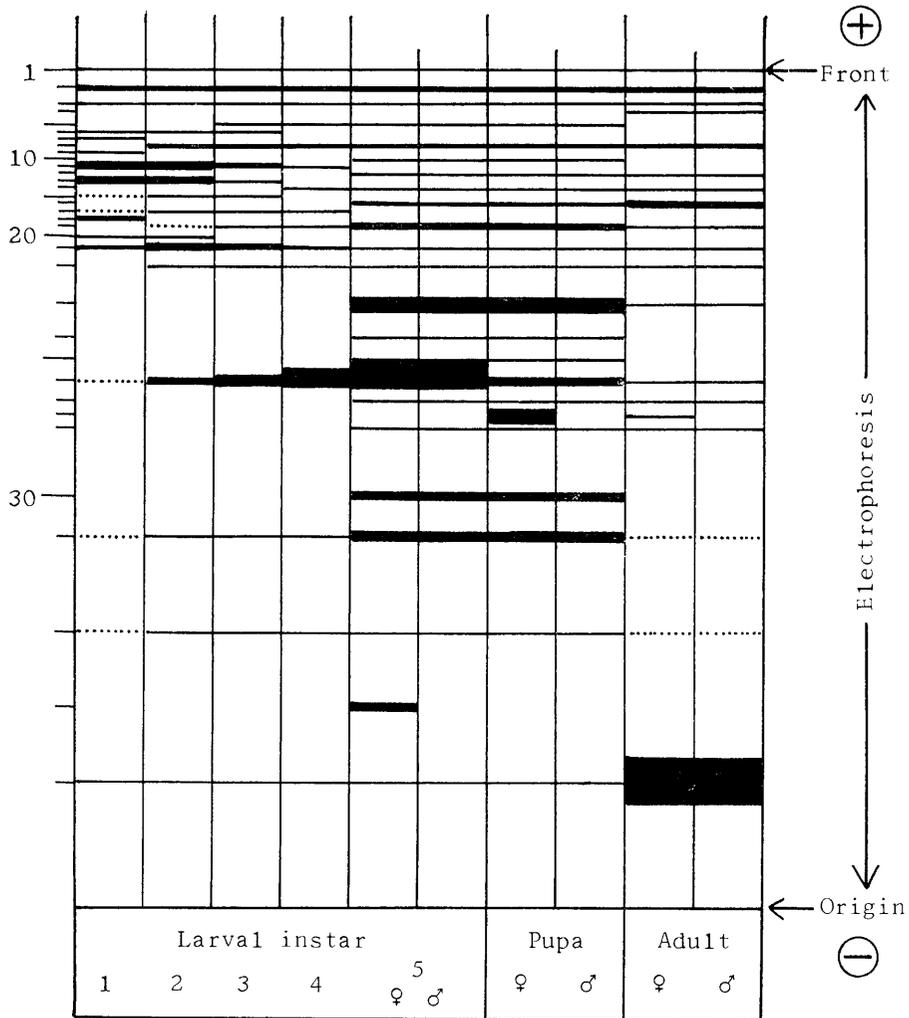


Fig. 3. Diagram of electrophoretic patterns of blood proteins in the silkworm.

大していく。3令期では第11, 第21の減少と相俟ち, 第26がすでに最大成分となっている。第19, 31, 32泳動帯なども2令期から判然と認められて5令期に最大に達するものである。4令期はそれ迄の主要成分であった第11, 第13, 第21の減少(消失)が著しく, 代つて第26の占める割合が益々増大する。

5令壮蚕期では第26のほか第19, 第23, 第30, 第31泳動帯などが主要成分となっている。特に第23, 第30は5令期になって初めて検出される。泳動帯第33は5令壮蚕雌のみに認められ, 同期の雄あるいは他の時期のものには見出されない。

蛹では5令壮蚕期の主成分第26泳動帯が減少し, 第

25が検出されるほかは同期におけると大差ない。雌蛹では5令雌のバンド第33は消失し, 代つて第28がみられるようになる。第28泳動帯は雌蛹にみられるほか雌蛾にも痕跡的に残存するが, 雄および他の時期の体液には検出できない。したがって第33成分は幼虫型雌蛋白(Larval female protein, FL), 第28成分は蛹型雌蛋白(Pupal female protein, FP)と言える。

成虫の体液では蛹期における主要蛋白成分の殆んどが減少し, 痕跡的に認められるのみとなるが, 易動度の小さい第34泳動帯が顕著に増加しているのが特異的である。このほか第16および2, 3の微量成分には蛹期と比較して量的な変化は殆んどみられない。

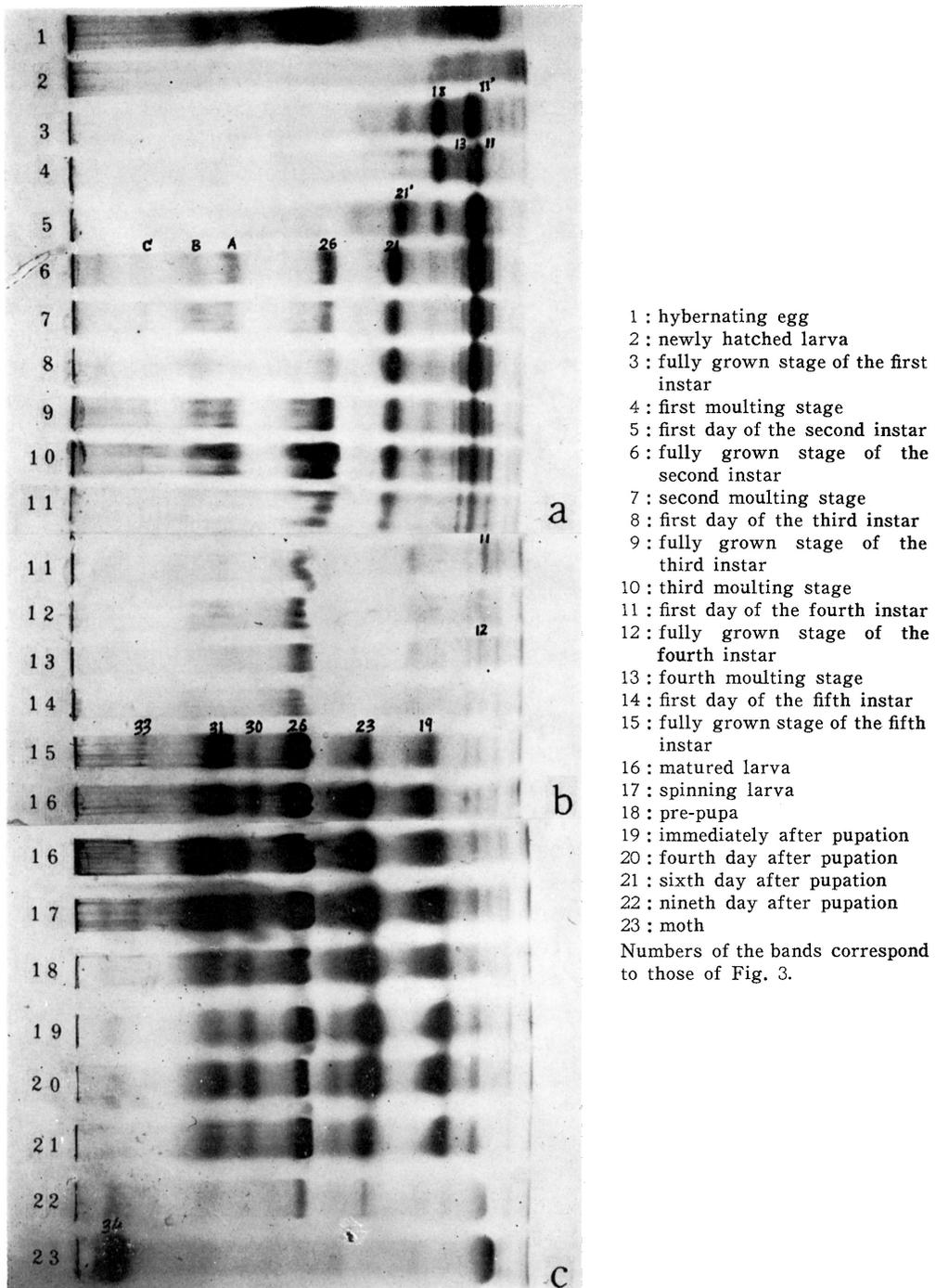


Fig. 4. Acrylamide gel electropherograms of egg and blood proteins in the silkworm, showing changes of the pattern with development and metamorphosis.

次で幼虫各令期間ならびに変態期間における蛋白変動を更に詳細に追跡するため、卵、蟻蚕の磨砕抽出液および1令盛食期から成虫に至る間で体液を経過を追って採取し、その蛋白成分を比較した (Fig. 4). なお、特定成分の分離検出を目的としてゲル毎に泳動条件を若干変更しているため、a, b, c 相互間あるいは Fig. 2 との直接の位置対応は行ない得ない。図中泳動帯に付した数字は Fig. 3 における泳動帯と対応する成分であることを示すものである。

Fig. 4 で蟻蚕 (2) の泳動像は越年卵 (1) のそれとはかなり異なっているが、明瞭な分離を示していない。1令盛食期 (3) における体液蛋白の主要成分は第11', 第13, 第18である。ここで注目すべきは第11'で、1眠期 (4) 以降の第11と対応する成分と判断されるが、この泳動条件下では常に第11よりも若干易動度が小さい。この点を除けば1令盛食期 (3) と1眠期 (4) との相異は見出されない。2令起蚕 (5) では1眠期 (4) に比し、第11, 第21'が増加し、第18がやや減少すること以外に大きな変動はない。ここでは第21'がそれと対応する2令盛食期 (6) 以降での第21よりも若干易動度が大きい。Fig. 3 で1令期に特有であるとした第18泳動帯は2令起蚕時 (5) においても判然と検出される。

2令盛食期 (6) は同令の起蚕 (5) とは著しく蛋白の成分型を異にしている。すなわち、1) 起蚕時までの主要成分、第18が消失し、2) 第13もこの条件では認め難くなるのに反し、3) 2令盛食期以降5令壮蚕期にかけての主要成分である第26が初めて判然とするし、4) 第19, A, B, C, が出現、あるいは顕著となり、5) 第21'は第21の位置に安定するのである。その後4令起蚕時 (11) までは第11, 第21の減少と第26の増加傾向以外にはさしたる変化は認められないが、注目すべきことは第26, A, C が同一令期中でも経過が進むにつれ濃度を増し 眠時最大に達するが、次令起蚕ではまた濃度が低下するというくり返しである。

4令盛食期 (12) に至り稚蚕期蛋白第11は消失し、代って第12が出現する。5令起蚕時 (14) まではそのままの状態を保つが、5令3日目頃から全体として急激に蛋白濃度を増す。特に第19, 第23, 第26, 第30, 第31などをはじめ、FL である第33も出現、あるいは急激に濃度を増す (15)。これら成分における濃度の増加傾向は熟蚕期 (16) まで続き、同期に最大に達する。吐糸管繭中 (17) は熟蚕期 (16) とほぼ同様であるが、吐糸を終了した化蛹直前のいわゆる前蛹 (18)

にあつては泳動帯第26ならびに第32の減少が認められる。化蛹 (19) 後は第26の減少が目立つ以外は、蛹中期 (21) まで著しい変動はない。ところが化蛾前日 (22) には中期における主要成分第19, 第23, 第30, 第31などがいずれも急激に減少する。ただ第34が増加し始め、第16および2, 3の微量成分には変化がない。成虫 (23) では蛹期における主要成分の減少が著しく、いずれも痕跡的に残存するのみとなるが、特異的に第34成分が急激に増加している。第16および少数の微量成分には殆んど変化が認められない。

Fig. 2 にみられるように、5令壮蚕期および蛹期にはそれぞれ特異的な雌蛋白、FL と FP とが検出されるので、両期における体液蛋白組成の雌雄差を更に追求してみた (Fig. 5, 6)。種々泳動条件を変えて検討した結果、5令壮蚕期には2泳動帯に雌雄による相異がみられ、いずれも雌に顕著である (Fig. 5)。それ故易動度の大きい方を幼虫型雌蛋白-1 (FL-1) とし、易動度の小さい方を幼虫型雌蛋白-2 (FL-2) とし、

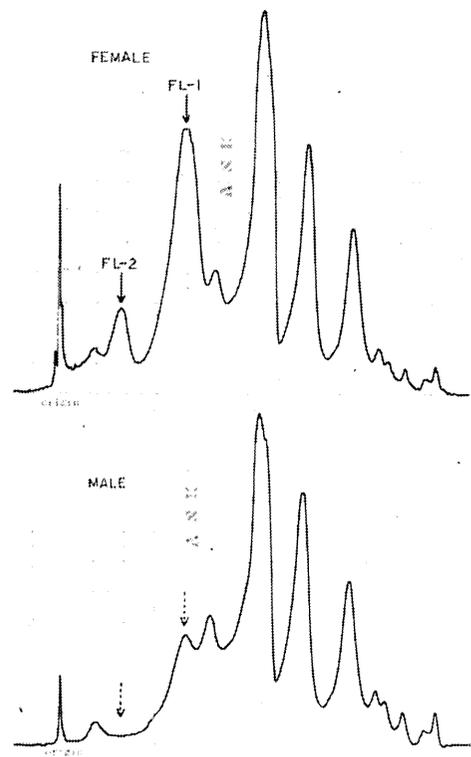


Fig. 5. Densitometric measurements of the pattern obtained in acrylamide gel electrophoresis of blood protein of the fully grown fifth instar silkworm larva.

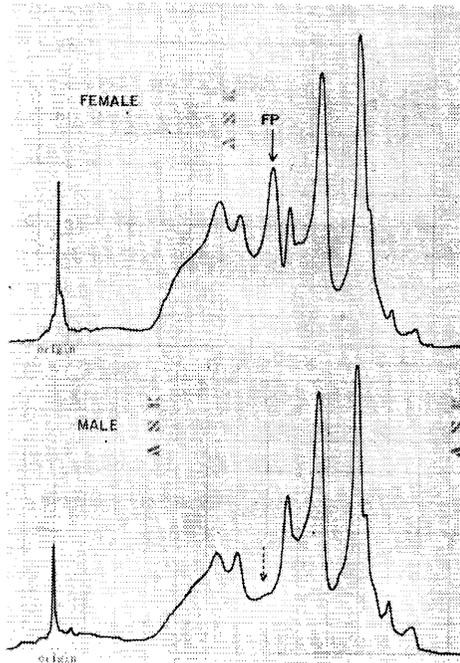


Fig. 6. Densitometric measurements of the pattern obtained in acrylamide gel electrophoresis of blood protein of the silkworm pupa.

する。FL-1 は泳動条件などが異なれば検出困難であるが本泳動結果では雌においては全蛋白量の約27%を占めているのに、雄における対応泳動帯は13%を占めるに過ぎず、絶対量に換算すると雌では雄の約2.7倍量認められることになる。FL-2 は Fig. 3 の第33泳動帯に相当し、雌では全蛋白量の約5%を占めるが、雄には殆んど検出されない。蛹期においては雌に幼虫期の FL とは異なる1蛋白成分 FP が認められるが、これは雄には殆んど検出できない(Fig. 6)。この FP は Fig. 3 における第28泳動帯に相当するものである。一方、FL はその1, 2 いずれも蛹期には認められない。

このように雌雄異蛋白が5令壮蚕期と蛹期とで明らかに異なる蛋白成分であるので、FL が検出可能となる時期および FL が消失し、代つて FP が出現する時期を調べてみた。その結果は FL-1 については不明であるが、FL-2 は5令3日目頃から出現し、化蛹直前の前蛹期までは判然と認められるにかかわらず、化蛹直後の雌ではもはや検出されなかつた。これに対し FP は化蛹直前の前蛹期においては未だ認められなかつたのに、化蛹直後の雌体液にはすでに相当量検出された。

論 議

カイコの体液蛋白成分が発育、変態に伴つて変動することは、すでに電気泳動法を用いて確認された事実ではあるが、従前の報告では各成分の分離が甚だ不充分である。また、1, 2令期の蛋白成分については分析が行なわれていなかったため、蛋白変動の実態を完全に把握することができなかつた。

従来、カイコの体液蛋白の組成については、濾紙泳動法で3~4成分(鮎沢, 1955; 小林・小松, 1956; ほか)、Tiselius 法で3~5成分(筑紫, 1951; 稲神, 1954; 佐々木・小田, 1955; ほか)に分離することが認められているに過ぎず、acrylamide gel を用いて最も多くの分離をみたものでも、5令中期で10成分、蛹期で10成分を算するに過ぎなかつた(Nakasone and Kobayashi, 1965; 小原, 1967)。しかるに著者の結果では識別可能な泳動帯は5令壮蚕期で21~22本、蛹期で22~23成分にも及ぶのである。同じゲルが用いられた従前のものに比べても、分離成分数がこのように多くみられたわけは泳動システムの相異による点が大いと考えられる。著者も初期においては同じ試料を用いて12~13成分の分離像しか得ることができなかつた。

カイコ体液蛋白の泳動パターンを概観した場合、カイコの体液蛋白組成の変換期として、1) 2令食桑期、2) 4令期、3) 化蛾前日の3つがあると言えるようである。すなわち、同じ幼虫期であつても稚蚕期と壮蚕期とでは4令を境にして蛋白成分に大きな相異があるのに、異なる変態段階にある蛹の蛋白が少なくともその中期までは5令壮蚕期におけると大差ないことは、極めて注目すべき事象である。また、成虫期における特徴である第34成分の増加および蛹主要成分の減少消失傾向は、すでに化蛾1~2日前に顕著である。稚蚕期においても、1令から2令起蚕時までと2令盛食期以降とでは蛋白型に大きな変化がみられる。さらに幼虫期間中、第26, A, Cなどの成分は同一令期中においても経過の進行につれて濃度を増し眠時最大に達するが、次令起蚕ではまた濃度が低下するというくり返しがみられる。これら体液蛋白成分の生理的機能あるいは形態形成上に果す役割は、これが因となるか、果として生ずるか未未知であるが、このような蛋白型の変換が異なる発生段階において営まれる生理的变化と密接な関連を有するものであろうことは疑を容れない。稚蚕期と壮蚕期における蛋白型の変換は、両期において営まれる代謝機能の変化と関連す

るものであろうし、2令食桑期における変換は、「細胞学的に言えば2令までは胚子期細胞の延長であり、真に幼虫型細胞として分化してくるのは3令からである」という中部消化管粘膜細胞にみられる染色性の変化その他の組織学的な所見(林, 1967)と関連した事象であると考えられる。また、第26, A, C成分にみられる幼虫令期中における増減は眠-脱皮と関連したものであろう。

雌特異蛋白についてみれば、化蛹脱皮期を境として5令~前蛹期には幼虫型雌蛋白が、蛹化すれば蛹型雌蛋白がみられる。すなわち雌においては化蛹脱皮期もまた1つの体液蛋白変換期である。雌特異蛋白の存在は雌雄における生理機能の相異と関連し、幼虫型雌蛋白から蛹型雌蛋白への変換は、雌において幼虫期と蛹期とで代謝機能が変化する(蛹期における卵巣の急激な発育、卵細胞形成)ことと関連を有するものであろう。著者はこれら雌特異蛋白の精製を進めており、幼虫型については未知であるが、蛹型に関しては現段階では卵細胞質の1主要蛋白成分と、1)泳動性、2)溶解性、3)分子量の諸点で相異を見出すことができないので、蛹型雌蛋白は卵細胞形成に直接重要な役割を果たしているものように推察されるのである。

このように代謝活動の場合あるいはその媒体である体液の構成成分である蛋白の組成は、後胚子発育および変態に伴って変化するのであつて、それは合成、分解、他組織への取り込みの変化を反映するものである。何がこのような体液蛋白の生成を支配しているか、その機構は現段階では不明である。しかし一般に蛋白はm-RNAを直接の鋳型として合成され、そのm-RNAは遺伝子DNAを鋳型として生成されると言われており、この両合成過程にホルモンを含めた調節機構が介在することは広く認められていて、カイコの体液蛋白の場合もその例外ではないと思われる。つまりカイコの体液蛋白合成も遺伝子により支配されるもので、体液蛋白の成分型の変換はとりも直さず遺伝子活性の変動を示すものと考えられる。2令食桑期、4令期、化蛹期、化蛾直前の4期を境として、各期に特異的な遺伝子(又は遺伝子群)が活性化あるいは不活性化され、固有の蛋白成分の合成が行なわれる。その一方において特定蛋白(又は蛋白群)の分解あるいは他組織への取り込みが行なわれる。これらの結果として、かくも著しい蛋白成分型の変動がみられるのである。このようにみえてくれば、蛋白型の変換がより明白な形態変化に先立つて起つていくことになる。

もつとも分離泳動帯の異同がすべてそのまま蛋白分

子の異同を意味するとは限らない。稚蚕期における第11'と第11, 第21'と第21との関係などは蛋白部分とは同じであるが、それに結合する低分子物質の相異により、全体としての電荷に違いを生じたものとも考えられるが、これらの点についてはさらに将来の分析にまたなければならぬ。

本報における泳動結果を既報のそれと直接比較することは極めて困難である。何故ならば泳動の支持体が異なる場合は勿論であるが、同じacrylamideを用いても、ゲル、緩衝液の組成、平面法か垂直法か、あるいはゲルの厚さ、電流強度などにより泳動パターンが異なってくるからである。また同じ組成の単体-触媒混合液を用いてもゲル化させる場合の温度、ゲル作成から使用までの時間などによつても泳動分離状態に変化がみられる場合もある。本報における泳動結果でもFig. 2のaとb、あるいはFig. 4のa, b, cなどについて、各々対応する試料の泳動状態を比較した場合、分離像に極めて大きな相異がみられる。特にFig. 2のbはaにおけると同一の溶液ならびに試料を用いて、同時にゲル作成あるいは泳動を行なつたものであるが、ただ電流強度をaの3 mA/cmに対しbでは2.5 mA/cmとし、泳動時間がaで1.5時間、bで3時間を要したという2点で異なつていたのである。ゲル巾1 cm 当り0.5 mAの電流強度の相異でも泳動像にこのように大きな影響を与えて、泳動帯の数はaに多く、全般的な分離状態もaが秀れているが、特定部位の分離あるいは特定成分の易動度の異同はbで初めて判然と認められるのである。また5令期における体液蛋白の雌雄差を調べた場合も、FL-1がFig. 5における形で認められるのはこの泳動条件の場合のみである。したがつて比較する材料あるいは成分によつて最も適切な泳動条件を選ばなければならないことは論を俟たないし、厳密な比較は同一ゲル板上において泳動したものについてだけしか行なえないのである。それ故泳動システムが異なり、分離状態も全然違う既報の結果と本報の場合とを直接比較することは差控えなければならないが、ただ、著者がこれ迄分析した系統では、江口ら(1966)の結果とは異なり、雌特異蛋白が前蛹期のみ認められるというようなことはなく、化蛹直前までは幼虫型雌蛋白FLが、化蛹直後からは蛹型雌蛋白FPが検出されており、FPがFLとは泳動性が異なり陽極側への移行が大きいことはディスク泳動法を用いた小原(1967)の結果と一致している。しかし小原は5令期には1泳動帯に雌雄差を認めたと止まるが、それが本報におけるFL-1である

か、FL-2であるか、あるいは両成分が分離しなかつたものか不明である。また3令期からの体液蛋白組成を調べた Nakasone ら (1965) は、本報における稚蚕期に特有な蛋白に相当するものを観察していないが、これも泳動条件あるいは試料の相異によるものであろう。事実、体液蛋白泳動像は系統によつて非常に異なる場合が多いし、交雑種は屢々複雑な様相を呈する(未発表)ので分離能が高まれば高まるほど、使用系統の異同、系統内における均一性の吟味が必要であり、前述の諸報との相異も使用系統が異なっている点に留意しなければならない。

ともあれカイコの体液には、稚蚕期、壯蚕期、蛹期、成虫期の各期に特異的な蛋白の成分型が観察されるのであるが、これら体液蛋白の構造を決定する遺伝子、あるいはその作用発現を調節する具体的機構については未だほとんど分析が行なわれていない現状である。したがつて著者は体液蛋白組成の系統間変異の分析、遺伝子分析を進めるとともに、遺伝子活性の調節機構、数種蛋白の精製、その機能的意義あるいは組織細胞蛋白との相互関係について追究してゆく考えである。

要 約

カイコの1令から成虫までの発育、変態に伴う体液蛋白成分の変化を、acrylamide gel を用いる薄層電気泳動法で調べ、次の結果を得た。

1. カイコの体液蛋白成分は発育に伴つて変化するが、5令壯蚕期から蛹期にかけて量的にも成分数でも最大に達する。泳動分離帯は5令壯蚕期で21~22成分、蛹期で22~23成分に及んだ。

2. 体液蛋白の泳動パターンは4令期を境に稚蚕型と壯蚕型とに分かれる。稚蚕型はさらに2令起蚕までと同令食桑期以降とで2型に分かれる。蛹期は5令壯蚕期と大差ない。成虫では特異的な1成分が増加するが、蛹期における主要成分のほとんどが著しく減少あるいは消失している。すなわち体液蛋白の変換期は、1) 2令食桑期、2) 4令期、3) 成虫化前日の3期である。

3. 5令中期以降では泳動パターンが雌雄により異なる。5令中期から前蛹期までは幼虫型雌蛋白が2成分、化蛹後はそのいずれとも異なる蛹型雌蛋白1成分

が検出される。雌特異蛋白について言えば、その変換期は化蛹脱皮期である。

文 献

- 鮎沢啓夫 (1955): カイコ血液蛋白の濾紙電気泳動. 口蚕雑, 24, 393—397.
- Antoine, B. (1962): Synthetic acrylic gel, A new medium for the study of immune precipitates. *Science*, 138, 977—978.
- 筑紫春生 (1951): 家蚕体液の蛋白分層 (要旨). 日蚕雑, 20, 289.
- 江口正治・政山亭・西村允子 (1966): 家蚕の変態に伴う組織蛋白の電気泳動像の変化. 日蚕雑, 35, 435—443.
- 林嶺二郎 (1967): (私信).
- 稲神 馨 (1954): 家蚕体液の蛋白質に関する研究 (Ⅲ) 蛋白質の電気泳動像について. 日蚕雑, 23, 304—307.
- 小林茂三郎・小松一信 (1956): 蚕血液蛋白の研究. 生物物理化学, 3, 28—31.
- 小原隆三 (1967): 数種昆虫の体液蛋白における雌雄間差異. 応動昆, 11, 71—75.
- Loughton, B. G. and A. S. West (1965): The development and distribution of haemolymph proteins in *Lepidoptera*. *J. Ins. Physiol.*, 11, 919—932.
- 守屋 寛 (1964): 新しい電気泳動 Cyanogum 41 (合成ポリアクリルアミドゲル). 核酸蛋白質酵素, 9, 558—564.
- Nakasone, S. and M. Kobayashi (1965): Acrylamide gel electrophoresis of blood protein during the moulting and the metamorphosis in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Jap. J. Sericult.*, 34, 257—262.
- 荻田善一 (1965): ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 I. 代謝, 2, 331—344.
- Raymond, S. and L. Weintraub (1959): Acrylamide gel as a supporting medium for zone electrophoresis. *Science*, 130, 711.
- 佐々木周郁・小田純子 (1955): 家蚕の蛋白質に関する研究 (I) 家蚕体液蛋白質の塩析. 口蚕雑, 24, 333—337.
- Stephen, W. P. and A. L. Steinhauer (1957): Sexual and developmental differences in insect blood proteins. *Physiol. Zool.*, 30, 114—120.
- Telfer, W. H. and C. M. Williams (1953): Immunological studies of insect metamorphosis (I) Qualitative and quantitative description of the blood antigens of the *Cecropia* silkworm. *J. Gen. Physiol.*, 36, 389—413.

Summary

Acrylamide gel thin layer electrophoresis was used to study the development and distribution of blood proteins in the silkworm, *Bombyx mori*. More than twenty bands, the tremendous number of which has not yet been found so far, were demonstrated in the fifth larval instar and pupa. In the first and the early second larval instar one specific protein band, no. 18, was detected, and the band disappeared in the middle stage of the second instar. Two characteristic bands, nos. 11 and 21, were found to be predominating in younger instars. Concentration of the band 11 was gradually diminished and finally disappeared in the fourth instar, while the band 21 was still remained until the time of emergence although it was reduced in amount.

Both number of bands and total amount of protein constituents were more remarkably and rapidly increased during the last fifth larval instar than any other stages of life cycle. The most striking change in the fifth instar was the appearance of bands 23 and 30. The second apparent change was the increase in concentration of proteins 19 and 26. The two distinct bands which might be called as larval female proteins (FL-1 and FL-2) were found in the middle and later stages of the fifth instar.

After pupation slight change in electrophoretic pattern, compared with that of the late fifth instar, was observed except notably reduced amount of band 26 and the conversion of "female specific" proteins. It is of interest that the larval female proteins disappeared completely just after pupation, and in turn a faster moving band was newly detected in female pupa which was absent in the male. So this new band stands for a pupal female protein (FP).

As the pupal stage progressed, there was a general indication of decrease in the amount of major pupal proteins, followed by a sudden severe reduction on the day before emergence to remain in trace amounts. On the contrary, the band 34 increased rapidly in concentration at the time of emergence and served as the main fraction of the adult moth.

This simultaneous changes of blood proteins during life cycle of the silkworm provided a detailed example of the logical assumption that the biochemical development of proteins precedes the more obvious morphological changes in metamorphosis.