

健康蠶 및 核多角體 罹病蠶의 體液蛋白質의 電氣泳動像

Electrophoretic Patterns of Hemolymph
Protein of Healthy and Nuclear-Polyhedrosis
Virus Infected Silkworm, *Bombyx mori*.

金 洛 禎 · 姜 錫 權 · 金 正 一
(서울대학교 農科大學)

N.J. Kim, S.K. Kang, J.I. Kim
(Agricultural College of Seoul National Univ.)

Summary

By means of thin-layer electrophoresis in agarose gel, hemolymph protein of healthy silkworm larvae and of the nuclear polyhedrosis virus infected larvae were studied.

1. In the 4th instar, 4 fractions moving toward anode were separated. Dye-binding Capacity of the fraction was increased according to the stage.

2. After 5th day in the 5th instar, 7 fractions moving toward anode were separated, and one fraction toward cathode was separated.

3. On the first day in the 5th instar, 5 fractions were separated, and on the 4th day of the same instar 5 fractions were separated.

4. As for the hemolymph protein fractions of the polyhedrosis virus infected larvae, on the 6th and 7th day, three fractions(D.E.F) were inclined to increase, whereas on the 8th day 4 fractions(A.B.D.E) were disappeared but F fraction was inclined to decrease.

I. 緒 言

家蠶의 體液蛋白質의 電氣泳動像에 대하여는 稻神⁴⁾, 鮎澤^{1,2)}, 中曾根⁷⁾, 江口³⁾, 小原^{5,6)}의 報告가 있으며 한편 核多角體 바이러스에 感染된 家蠶體液 蛋白質의 電氣泳動像에 대하여는 稻神⁴⁾ 및 渡部⁹⁾의 報告가 있다.

稻神⁴⁾의 濾紙電氣泳動에 의하면 體液蛋白質에는 albumin, α -, β -globulin 이 존재하나 fibrinogen과 γ -globulin

은 存在치 않는다고 報告되어 있으며, 鮎澤^{1,2)}도 濾紙電氣泳動法에 의하여 家蠶幼蟲의 體液中에는 3種類의 蛋白質成分이 存在한다고 했으며 또한 5齡 熟蠶에 암누에의 體液蛋白質중에만 새로운 分割이 나타난다고 報告되어 있다. 그후 薄層의 gel을 支持體로 하는 電氣泳動의 技術이 發達함에 따라서 中曾根⁷⁾은 acryl amide gel을 利用한 電氣泳動으로 3~4齡 幼蟲의 體液中에는 6個 成分의 蛋白質이 存在하나 眠中에는 그중 한 成分이 消失되며, 5齡期에는 10個 成分으로 되었다가 그후 熟蠶期에는 오히려 2개 成分이 消失되어 모두 8個 成分이 되고 吐絲期에는 새로운 成分이 하나 더 생겨 9個 成分이 存在한다고 報告하였다.

江口³⁾도 disc 電氣泳動에 의하여 家蠶의 여러 組織中 變態에 따른 蛋白質成分의 變化를 研究하였던바 體液中에는 5齡期부터 蛹期까지 적어도 10個의 分割이 나타났는데 같은 時期에 있어서도 암컷의 分割이 수컷의 分割보다 進하게 染色되며 前蛹期에는 수컷에 없었던 分割이 암컷에 나타난다고 報告했다.

또한 小原^{5,6)}은 disc 方法으로 누에의 암수간의 體液蛋白質의 成分의 差異는 5齡 中期 以後에 나타나며, 發育에 따라서 染色의 濃度가 깊어 進간다고 報告하였다.

한편 核多角體 바이러스에 感染된 누에 體液蛋白質의 成分變化에 대하여는 研究者에 따라 相反된 見解를 發表했는데 稻神⁴⁾는 濾紙泳動方法에 의하여 α -, β -globulin 이 增加한다고, 渡部⁹⁾는 agarose gel 泳動方法에 의하여 罹病程度가 甚해짐에 따라서 移動度가 느린 蛋白質 分割부터 減少하기 시작하여 罹病末期에는 全般的으로 蛋白質 分割이 減少한다고 報告하였다.

筆者는 누에의 成長에 따른 단백질 分割의 변화 및 核多角體 罹病蠶의 蛋白質 分割의 변화를 조사한바 그 結果를 報告하는 바이다.

本研究中 一部는 文敎部學術助成研究費에 의하여 이루어졌음을 밝힌다.

II. 材料 및 方法

모란×대동을 암수별로 4齡 起蠶부터 供試했다. 供試한 核多角體病蠶은 5齡 起蠶에 多量의 核多角體를 添食 시켜 感染시켰으며, 體液은 健康蠶과 病蠶을 1日 1回 腹脚을 切除, 採取하여 길이 0.8cm의 木綿絲에 吸着시켜 바로 電氣泳動을 行하였다.

電氣泳動의 gel은 agarose(日本半井化學製) 1.5g과 polyvinyl pyrrolidone(日本 第一化學製)1.5g에 100ml의 磷酸緩衝液(pH 6.8, ion 強度 0.05 μ)과 100ml의 증류수를 加하고 끓여서 充分히 溶解시킨 후, 8×12cm의 유리板에 分注하여 두께는 0.9mm 되도록 하였다. 여기에 體液을 吸着시킨 木綿絲를 埋沒시키고 여기를 原點으로 하여, barbital 緩衝液(pH 8.6, ion 強度 0.05 μ)이 들어있는 泳動槽에 유리板을 평행되게 놓고 gel 兩 端에는 濾紙를 놓아서 緩衝液과 接觸되도록 했다.

泳動은 5°C의 冷藏庫속에서 유리판 1cm 당 1.5mA의 定電流로 50分間 行하였다. 泳動終了後 gel 板을 80°C에서 乾燥시켜 固定시켰다.

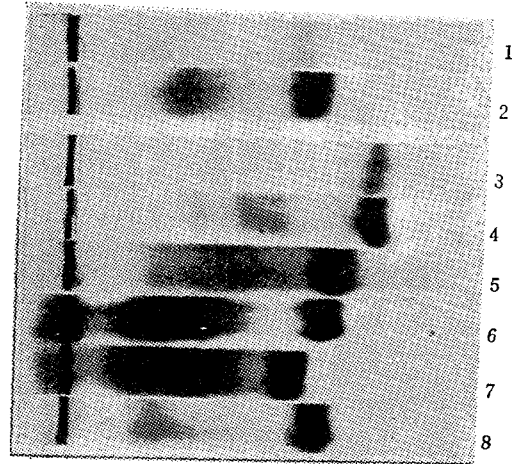
染色은 0.5% Amidoschwartz 10B (메칠알콜: 증류수: 초산=7:2:1의 容量比混合液)중에서 5分間 行하였고 洗滌液(증류수: 메칠알콜: 빙초산=4:5:1의 容量比混合液)으로 數回反覆洗滌하고 그후 室溫에서 乾燥시켰다.

III. 實驗結果 및 考察

이상의 實驗방법에 의하여 얻어진 電氣泳動像은 다음 그림과 같으며, 그의 模式圖는 第1圖로 나타나 지는데 4齡期에는 第1圖에 나타난 바와같이 移動速度가 빠른 順序로 B, C, E, F의 4個의 分割이 나타났으며 齡이 進前됨에 따라서 江口³⁾, 小原⁵⁾의 報告와 같이 染色의 濃도가 짙어지고 있다.

5齡 初期에는 移動速度가 가장 빠른 A 分割이 나타났으며 이 分割은 그후 계속 存在하나 罹病末期에는 다른 蛋白質分割과 함께 消失되었다. 그후 5齡 4日頃에는 E 보다 移動速度가 약간 빠른 D라는 새로운 分割이 나타났으며 이 分割도 罹病 中期까지 存在하나 罹病末期에는 消失되었다. 5齡 5日 以後에는 原點(0)에 가까운 위치에 가장 이동 속도가 느린 G 分割과 陰極쪽으로 移

動하는 G' 分割이 나타났으며 이 分割은 그후 계속 하여 罹病末期에도 存在하는 것으로 觀察되었다.



1. 2nd day in the 4th instar
2. 4th day in the 4th instar
3. first day in the 5th instar
4. 4th day in the 5th instar
5. healthy silkworm after 5th day in the 5th instar.
6. earlier stage of infection
7. advanced stage of infection
8. diseased stage of infection

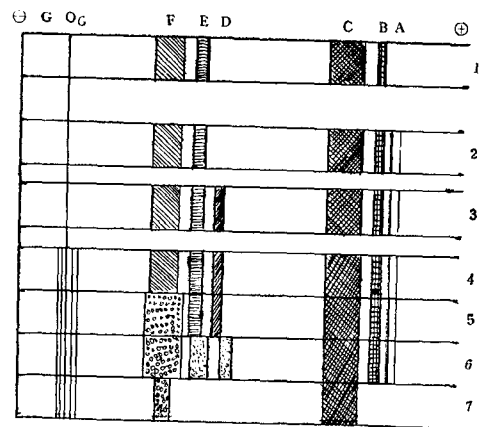


Fig. 1. Electrophoretic patterns of hemolymph protein of healthy and nuclear polyhedrosis virus infected silkworm.

A~F; fractions moving toward anode

G; fraction moving toward cathode

1; 4th instar

2; 1st day in the 5th instar

3; 4th day in the 5th instar

4; healthy silkworm after 5th day in the 5th instar

- 5; earlier stage of infection
- 6; advanced stage of infection
- 7; diseased stage of infection

本實驗方法에 의하면 5齡中期以後에는 陽極쪽으로 移動하는 7個의 分割과 陰極쪽으로 移動하는 1個의 分割을 합쳐 모두 8個의 蛋白質分割이 分離되는 것이 觀察되었다. 또한 齡의 進前에 따른 染色濃度の 增加도 觀察되었는데 이것은 體液中 蛋白質의 濃도가 成長에 따라서 增加되어 dye-binding capacity가 增加되므로 일어나는 것으로 생각된다.

病蠶의 경우에는, 5齡 1日째 多量の 核多角體 바이러스를 添食시킨 결과 5齡 5日頃부터 體液內 核多角體가 觀察되었고, 罹病初期에는 F分割이 增加되었고 罹病中期에는 F分割과 함께 E,D分割이 增加되었으나 廢死直前인 罹病末期蠶의 體液蛋白質 中에는 A,B,D,E分割이 消失되고 또한 F分割도 減少되는 것이 觀察되었다. 稻神⁴⁾은 濾紙電氣泳動에 의하여 膿病에 걸린 누에의 體液中에는 α - β -globulin이 增加한다고 報告하였으나, 二 후 渡部⁸⁾ 등의 報告에 의하면 核多角體 바이러스 罹病蠶體液의 蛋白成分은 罹病程度가 進前됨에 따라서 차차 減少되어 廢死直前에는 消滅된다는 相反된 報告가 있는데 本實驗의 結果에 의하면 罹病程度에 따라서 5령 6,7일까지는 體液中 蛋白質成分의 一部는 增加되나 그후부터는 消滅되거나 減少되는데 이 增加의 原因에 대하여는 昆蟲體液면역과 결부하여 次後의 좋은 研究 과제가 될 것으로 믿어진다.

IV. 摘 要

누에의 成長에 따른 蛋白質分割의 變化 및 核多角體 罹病蠶의 體液의 蛋白質分割의 變化를 agarose gel을 支持體로 한 電氣泳動에 의하여 調査하였던 바 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 4齡期에는 4個의 蛋白質 分割이 나타났으며 齡期가 進前됨에 따라서 染色의 濃도가 짙어졌다.
2. 5齡 1日에는 5個의 分割이, 5齡 4日에는 5個

의 分割이 나타났다.

3. 5齡 5日以後의 健康蠶의 體液中에는 陽極쪽으로 移動하는 7個의 蛋白質 分割과 陰極쪽으로 移動하는 1個의 分割이 分離되었다.
4. 核多角體 Virus를 添食시킨 罹病蠶의 體液蛋白質 中에서 5齡 6日 7日에는 D,E,F分割이 增加되는 경향이 있고 5齡 8日에는 A,B,D,E分割은 消失되고 F分割은 減少되는 경향이 있다.

참 고 문 헌

1. 鮎澤啓夫(1955): カイコの 血液蛋白の 濾紙電氣泳動 日蠶雜 Vol. 24, 393~397
2. 鮎澤啓夫, 小林勝利, 阿部文子 (1960): カイコにおける“永續蛹”의 體液蛋白의 濾紙電氣泳動 日蠶雜 Vol. 29, 197~202
3. 江口正治, 政山享, 西村充子 (1966): 家蠶의 變態に伴う 組織蛋白의 電氣泳動像의 變化 日蠶雜 Vol. 36, 435~439
4. 稻神馨 (1954): 家蠶體液의 蛋白質에 關する 研究 (Ⅲ) 蛋白質의 電氣泳動像について 日蠶雜 Vol. 23, 304~307
5. 小原隆生 (1969): 數種昆蟲의 體液蛋白質에 於ける 雌雄間의 差異 日應動昆 Vol. 11, 71~75
6. 小原隆生, 河合孝 (1969): カイコの 發育と 變態に伴う 體液蛋白의 ディスク 電氣泳動像의 變化 鳥取大農學報 Vol. 21, 18~21
7. 中曾根正一, 小林勝利 (1965): Acryl amide gel electrophoresis of the blood protein during the moulting and the metamorphosis in the silkworm, *Bombyx mori* 日蠶雜 Vol. 34, 257~261
8. 渡部仁, 小原隆生, 保坂政子 (1968): 核多角體 바이러스에 感染した 家蠶體液蛋白의 電氣泳動 日蠶雜 Vol. 37, 317~322