

家蠶卵 胚子發育過程中서 各種內容物質의 變動에 關한 生化學的 研究

林 永 祐
(서울農業大學)

Biochemical Studies in Relation to Change of Materials in Process of Growth of Embryo in Silkworm Eggs (*Bombyx mori* L.)

Y. W. Lim

Seoul Municipal College of Agricultural

Summary

As a result of analyzing the change of material substance of all sorts biochemically and comparing the control with γ -ray irradiation (800 γ , 40 Min), incubating the silkworm eggs (*Bombyx mori* L.) as the objective in the process of growth of embryo shortly before hatching, the following conclusion has been found.

1. Ascorbic acid has shown the maximum increase of 319 γ /g in the Byong B embryo stage and in other words it has increased during the period of vigorous metabolism of the materials in eggs but it has decreased before hatching after that period.

2. Triglyceride has shown the increase of 27.54 mg/g in the Byong A stage, the early period of incubation and in other words it has increased in the period of activation of cells in eggs but it has gradually decreased during the growth of embryo after that period. Great change of either total cholesterol or free cholesterol has not been shown from the early period till shortly before hatching.

3. Free fatty acid has shown the minimum decrease of 257.4 μ mole/g in the Byong A stage in which triglyceride increases greatly. On the contrary, it has shown the increase of 1,020.0 μ mole/g in Ki A stage in which triglyceride decreases. As a whole, the fact that free fatty acid increases according to the growth of embryo in eggs has been found.

4. Glucose has shown the increase of 281.2 mg/g in control during the Pigment stage and it has shown the increase of 179.6 mg/g in γ -ray irradiation during the same period. The difference in quantity between the former and the latter is due to the fact that the growth of embryo has been influenced by the radio active. Glucose has changed with free fatty acid and phosphorus the other way round.

5. Control organic phosphorus has shown the increase of 5.23mg/g during the Byong B or Ki A in which organ and tissue in the embryo has been formed.

Organic phosphorus in γ -ray irradiation has shown the increase of 5.73mg/g during Ki B. Inorganic phosphorus has shown only a little change in the control and γ -ray irradiation. The phosphorus in both has shown a little quantity in the γ -ray irradiation in the early period of in-

cubation. After the Ki A embryo, it has increased rapidly and it has increased till the hatching more continually than in control.

The about results of the research will be helpful and instructive to the betterment and improvement, breeding and management of animals and plants.

I. 緒 言

일찌기 家蠶卵內 胚成長에 關하여 研究된 바 있으나 주로 形態學的 組織學的 變化에 關한 研究에 지나지 않고 蠶卵催青 過程中 內容物質代謝에 關係되는 生化學的 報告가 微微하다. 그러므로 本 實驗에서는 實驗 材料條件을 Part 1 에서는 催青(Incubation)中 蠶卵內 胚子發育程度가 甲 胚子時期부터 生理的 發達로 보아 重要한 時期를 6段階로 나누어 Ascorbic acid 와 Lipids 의 變動을 生化學的으로 分析하고 Part 2 에서는 두 區로 나누어 한 區는 標準區로 다른 한區는 丙_B 胚子時期에 放射線 800 γ 에서 40分間 照射시킨 다음 標準區와 같은 條件下에서 催青시키면서 孵化直前に 이르기까지 5段階로 나누어 Glucose 와 phosphorus 를 定量 分析하고 生化學的으로 考察한 것이다. 이상과 같이 家蠶을 對象으로 催青過程에서 諸物質의 變動에 關한 生化學的 研究는 今後 生物의 育種이나 品種改良 및 保存에 크게 裨益될 것으로 思料된다.

本 論文을 作成함에 있어서 처음부터 끝까지 親切하게 指導하여 주신 李吉相教授任과 서울大學校 醫科大學 李基寧教授任 그리고 많은 도움을 주신 全盤元 先生任께 심심한 謝意를 表합니다.

II. 研究 史

1934年 Eino Wooae Gotazi⁽²⁷⁾가 蠶卵內脂油는 Linolic acid 이고 蛹體內的 脂油는 Isolinoleic acid 이며 休眠期 胚子로부터 突起發生期에는 r-Lecithin 이 많고 反轉期에서는 Cephalin 이 많다는 報告가 있다.

1937年 Kuroda Lee⁽⁹⁾는 胚子が 發育함에 따라 卵內 水分量이 顯著하게 變化한다는 것을 報告하였고 1938年 Gamahu⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾은 家蠶幼蟲이 發育함에 따라 體內 Ascorbic acid 의 量的 變動에 關하여 體液中에는 酸化型 Ascorbic acid 가 많고 組織中에는 還元型 Ascorbic acid 가 많다는 報告가 있다.

1939年 Chikushi⁽³³⁾는 家蠶에 X-Ray 照射의 刺戟은 致死的 影響을 주고 照射量이 많음에 따라 催青中 胚子の 發育이 느리고 死卵率이 增加한다는 것을 報告하였으며 1941年 Akao, Hironaka⁽²⁴⁾는 家蠶幼蟲 發育

過程에서 Glycogen 이 物質代謝에 必要한 energy source 로 重大한 生理的 意義가 있다하고 1951年 Itonsi⁽²⁸⁾는 催青卵內 DNA 와 RNA 에 關하여 Feulgen 反應과 Pyroninemethyl green 複染法에 依한 組織化學的 報告가 있다.

1952年 E.M. Crook⁽³⁵⁾은 代謝過程에서 Ascorbic acid \rightarrow Dehydroascorbic acid + 2H⁺ + 2e⁻ 으로 되어 一般生體內 酸化, 還元에 關與한다는 報告가 있으며 同年 G.M. Tonking⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾은 Lipid 가 生體內에서 重要한 代謝過程에 關與하며 Liver 의 Cholesterol 合成에 미치는 影響이 Fast low caloric diet 로 因하여 低下된다고 하였다.

1955年 S.O. Nielsen⁽¹³⁾은 生體內 Liver cell 의 Mitochondria 에서 Ascorbic acid 가 Electron doner 로서 血液內 Cytochrome 을 酸化 還元시켜 p/o ratio 가 1에 가까우며 磷酸化 反應에 關與한다는 報告를 하였고, 1954年 S. Udefriend는 Ascorbic acid 가 Aromatic amino acid 의 hydroxylation 에 關與된다고 報告하였으며 1956年 J.J. Burns⁽²⁰⁾은 L-Ascorbic acid 가 動物과 植物 組織內에서 D-glucose 로부터 合成된다는 報告가 있다. 1959年 Sin⁽²¹⁾은 韓國人和 美國人の 血清內 脂質의 差異로 因하여 遺傳因子 食糧血管壁의 形態學的 乃至 組織學的으로 보아 年齡別, 性別로 重要함을 暗示한 報告가 있고 1959年 Takeda⁽¹⁵⁾는 催青卵에 X-線을 照射시킨 것은 正常에 比하여 掃蠶後 發育이 顯著하게 느리고 減蠶比率이 增加하며 蠶의 形態가 異狀型이 많이 나타난다는 것을 報告하였다.

1964年 Kurose⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾는 磷이 缺乏된 桑葉 (Mulberry leaves)으로 蠶兒를 飼育한 結果 成長에 障礙가 있었다는 報告가 있으며 1965年 同氏는 磷이 缺乏한 桑葉에 人工的으로 ATPK₂ (Adenosine-5-triphosphate K₂ salt) GMP K₂ (α -D-glucose monophosphate K₂ salt) K₂HPO₄ 를 添食시키고 糖粉으로서 Glucose와 Sucose 으로 飼育한 結果 K₂HPO₄ 를 주지 않은 群에서 成長에 좋은 結果를 얻었다는 報告 등을 本 研究에 補充的인 資料로 했다.

III. 材料 및 實驗方法

1. 材料

1. Part 1.

a. 供試品種; 雪岳×昭陽

b. 產卵日誌; 1968年 6月 30日 採種한 蠶種을 自然溫度에서 保護하다가 冬期에는 水庫(5°C)에 保護하여 이듬해 2月 13日 胚子가 甲胚子에 達하였을 때 出庫하여 供試材料로 하였다.

c. 催靑과 Sample 採取

漸進催靑法에 依하여 初期에는 17.5°C RH 80%에서 3日間 保護하고 다음 24.0°C RH 75%에 4日間, 26°C RH 80%에 5~6日間 恒溫器內에서 胚子를 發育시키던 시 甲, 丙_A, 丙_B, 己_A, 己_B, 그리고 點靑期의 蠶卵을 各各試料로 採取하였다.

2. Part 2.

a. 供試品種; 昭陽×雪岳

b. 產卵日誌; 1968年 6月 28日 採種한 後 Part 1에서와 같은 方法으로 保護한 다음 1969年 5月 14日 胚子가 丙_B에 이르러 50g을 取하고 25g은 放射線 800r (Cu Filter 50 cm 前方)로 40分間 照射시켜 標準區와 같은 條件下에서 供試의 材料를 取하였다.

c. 催靑과 Sample 採取

Part 1에서와 같이 漸進催靑法에 依하여 胚子를 發育시키면서 丙_B, 己_A, 己_B, 點靑期, 그리고 催靑卵期의 蠶卵을 試料로 採取하였다.

2. 實驗方法

1. Ascorbic acid⁽⁶³⁾⁽⁶⁴⁾의 測定

Sample 1g을 秤取하여 酸에 處理한 glass powder와 함께 5% TCA를 5ml加하고 粉碎한 다음 試驗管에 넣고 4°C에서 8~12時間 放置한 다음 遠沈(3,000 rpm에 10分)하여 上清液을 1ml 試驗管에 取하고, 다른 두 개의 試驗管에는 標準額 1ml을 取하고 各各 여기에 蒸溜水 1ml를 넣었다. 다음 2%의 Dinitrophenyl hydrazine 0.5ml를 넣고 38°C에서 4時間동안 放置시킨 後 冷却을 기다려 다시 65%의 H₂SO₄ 2.5ml를 加하고 잘 混合한 後 Coleman Electrophotometer를 利用하여 Filter 540 mμ에서 比色測定하였다.

2. Triglyceride⁽⁶⁷⁾의 測定

Sample 1g을 秤取하여 酸에 處理한 glass powder와 chloroform 5ml를 加한 다음 粉碎하여 試驗管에 넣고 遠沈하여 上清液을 取하고 4°C에서 濾過시킨 다음 濾液을 使用하였다.

다음 Zeslite 80~100 mesh 1g을 取하여 15ml를 遠沈管에 넣고 1ml의 Chloroform을 加한 다음 強하게 震盪시킨 후 4시간 동안 放置하였다가 4°C에서 濾過하여 濾液 3ml씩 두 개의 試驗管에 分取하고 그中 한 개는 盲驗用으로 하고 標準用은 標準液 3ml를 取하여 80°C의 水浴上에서 蒸發시키고, 0.4%의 Alcoholic K

OH 0.5 ml 盲驗用을 除外하고 0.5 ml씩 加한 다음 60°C~70°C에서 20分間 鹼出시키고 0.2N~H₂SO₄ 0.5 ml를 加한 後 80°C의 水浴上에서 10~20分間 加熱하고 冷却시킨 다음 다시 10分 經過하여 0.2% Chromotropic acid 0.5 ml를 加하고 잘 混合하여 100~105°C에서 加熱시킨 後 冷却시켜 Electrophotometer로 Filter 570 mμ에서 測定하였다.

3. Cholesterol⁽²⁵⁾의 測定

Triglyceride와 같이 處理한 다음 濾液 0.2 ml를 試驗管에 取하고 Alcohol-Acetone (1:1)溶液을 10ml加하고 잘 混合하여 70°C 水浴上에서 加熱시킨 後 冷却시켜 Alcohol과 Acetone 混合液으로 25ml가 되게 dilute시키고 4°C에서 濾過시켜 濾液을 分取하여 Total cholesterol과 free cholesterol을 分離 測定하였다.

a. Total cholesterol의 測定

濾液 2.5 ml를 試驗管에 取하고 3ml 程度의 水浴上에서 蒸發시킨 다음 氷 초산 3ml을 加하여 沈澱附着物을 씻고 2ml의 Color reagent를 加한 後 冷却시켜 Electrophotometer로 Filter 560 mμ에서 比色定量하였다.

b. Free cholesterol의 測定

濾液 2.5 ml를 取하여 80°C의 水浴上에서 加熱蒸發시키고 Digitonin 溶液 1 ml를 加한 다음 10分間 放置하였다가 遠沈하여 沈澱物에 다시 4 ml의 acetone을 加하고 잘 混合한 후 다시 遠沈시켜 上清液을 取하여 Electrophotometer로 Filter 560 mμ에서 比色定量하였다.

4. Free fatty acid⁽⁴⁾⁽¹⁸⁾의 測定

Duncombe의 比色測定法의 原理를 利用한 金等의 變法에 따라서 測定하였다. 即 組織 Homogenate를 triglyceride때와 同一하게 處理하고 磷脂質이 除去된 Doucil 濾液을 脂肪酸의 銅鹽으로 만들고 여기에 銅量을 測定하여 遊離脂肪酸量으로 換算하였다.

5. Glucose⁽¹⁴⁾⁽²²⁾의 測定

精製한 蠶卵 1g를 秤取하여 0.1M의 Phosphate buffer 5 ml를 넣고 Seasand와 함께 粉碎한 다음 10分間 遠沈하여 上清液을 取하고 여기에 9.5 ml의 Barium hydroxide (Ba(OH)₂)를 넣고 強하게 混合한 후 9.5 ml의 ZnSO₄ 溶液을 加하여 다시 잘 混合시키고 이것을 濾過시켜 濾液 0.5 ml를 取하여 1 ml의 alkaline Copper를 添加한 후 20分間 Water bath에서 加熱시켜 冷却시킨 다음 여기에 1 ml의 Arsenomoly bdate color reagent를 넣어 흔들어 混合하고 標準溶液으로는 10 ml의 蒸溜水에 0.5 ml의 Standard glucose 溶液을 만들어 Spectrophotometer의 OD를 窺에 맞춘 다음 Filter 540 mμ에서 測定하였다.

6. Phosphorus^{(28) (36)}의測定

a. Organic phosphorous

蠶卵 1g를 秤取하여 0.1M phosphate Buffer (PH. 7.4) 5ml를 加하고 sea sand와 함께 粉碎한 다음 試驗管에 取하여 700에서 10分間 遠沈한 後 上清液 1ml를 取하여 5N-H₂SO₄ 1ml를 넣고 digestion 시킨다 만약 이 때에 白煙이 나면서 黑變 및 黃變할 때에는 90%의 H₂O₂ 2~3滴을 加하고 無色이 될 때까지 繼續 加熱한 다음 冷却시키고 여기에 蒸溜水 5ml을 넣고 그 다음 Molybdate reagent II를 1ml 加하고 5N-1, 2, 4 Aminonaphtol sulfuric acid 0.5ml 加한 다음 5分間 放置한 後 Spectrophotometer Filter 660 mμ에서 測定 하였다.

b. Inorganic phosphorus

Organic phosphorous와 같은 方法으로 處理하여 上清液을 取하고 10% TCA를 加하여 除蛋白하고 다시 上清液을 取하여 5N-H₂SO₄ 0.5ml 加하여 digestion 시키 지않고 Molybdate reagent I을 1ml 加하여 發色시켜 5分間 放置後 Specterophotometer 660 mμ에서 測定 하였다.

IV. 實驗結果 및 考察

A. Ascorbic acid의 實驗結果

生體內 Ascorbic acid가 dehydroascorbic acid (As-

corbic acid ⇌ Dehydroascorbic acid + 2H⁺ + 2e)로 되어 可逆的 酸化, 還元作用으로 物質代謝에 關與하며 特히 核代謝, 그 中에서도 Chromosome duplication에 關與하고 있는 것이라는 Crook⁽³⁵⁾와 Hwang⁽³⁶⁾의 報告와 Akao⁽²⁴⁾가 報告한 蠶卵의 무게는 胚子發育이 進展되어 孵化에 이르기까지 漸次的으로 減少한다고 하였고 Kuroda⁽⁹⁾는 不越年卵과 越年卵의 胚子 發育過程에서 卵內 水分含量을 實驗한 結果 催青 4日~5日째인 丙A~丙B 胚子에서 最高 많았다는 結果에 비추어 本實驗 結果 Table 1에서 나타난 바와 같이 丙A에서 315.0γ/g과 丙B에서 319.5γ/g로 peak를 나타내고 그後 孵化直前에 이르기 까지 急激하게 減少하여 點青期에 240.0γ/g으로 最少量을 나타낸 것은 Crook⁽³⁵⁾ 및 Akao⁽²⁴⁾ Kuroda⁽⁹⁾씨의 結果와 一致되는 所致라고 生覺된다.

특히 丙B에서 Peak를 보인 것은 이 時期가 生理的 또는 形態的 전환기로서 Ascorbic acid의 合成과 轉換이 가장 活潑하게 이루어지는 때라고 생각된다. 이 외에도 Gamuhu^{(1) (2) (3)}는 本來 蠶卵이 最初로 生成되는 것은 蠶兒가 成長하여 蛹體로 變態할 때 이미 蛹體內에 卵이 形成되어짐을 生理·生態學的인 面에서 밝히고 동시에 幼蟲期에서는 Ascorbic acid를 飼料로부터 취하나 蛹體나 胚子成長에 必要되는 Ascorbic acid는 體內에 蓄積된 營養物이 轉換하며 D-glucose가 形成되고 D-glucose로부터 合成된다는 점에 비추어 Ascorbic acid가 卵內에서도 合成되며 生理的으로 가장 많이 要

Table. 1. Analysis of Ascorbic acid in the Silkworm Eggs During Their Development.

Stage	Kab	Byong-A	Byong-B	Ki-A •	Ki-B	Eye-pigmentation
Ascorbic acid	07.5γ/g	315.0γ/g	319.5γ/g	297.5γ/g	263.5γ/g	240.0γ/g

求된다고 생각된다.

B. Lipids의 實驗結果

脂質은 生物體의 組織細胞內에 分布되어 있는 脂肪 또는 이와 유사한 物質들의 總稱으로 組織細胞의 構成成分이며 一般的으로 物質代謝에 Energy源으로 作用한다.

Akao는 不越年卵의 催青 4日째인 反轉期前日(丙A)에서 還元糖과 遊離 Amino 酸態 窒素, 無機磷의 Purine

體 Cholesterol 및 磷脂質等이 顯著的 變動을 한다 하였고, Sugai⁽²²⁾는 胚子が 成長初期에는 acid phosphatase가 Alkaline phosphatase 보다 약간 強하고 細胞核이나 卵黃核中에 있음을 組織化學的으로 確認하고 Endoderm 형성 시초에는 特히 強한 陽性反應을 나타내며 反轉期에 達해서 對稱的으로 Endoderm 中에 多數에 強한 陽性 顆粒이 散在하고 있음과 同時에 丙A~丙B 胚子에 Phosphatase에 陽性反應度가 最高에 達하였다는 報告

Table. 2. Analysis of Triglyceride and Cholesterol in the Silkworm Eggs During Its Development.

	Kab	Byong-A	Byong-B	Ki-A	Ki-B	Eye-pigmentation	
Triglyceride	19.84mg/g	27.54mg/g	23.40mg/g	21.16mg/g	20.84mg/g	21.40mg/g	
Cholesterol	Total	3.40''	4.26''	3.58''	3.88''	3.62''	3.84''
	Free	1.22''	1.20''	1.09''	1.24''	1.22''	1.30''

에 비추어 本實驗結果 Table 2 에서와 같이 催靑初期 甲胚子時期에 19.84mg/g 로 最少를 나타내고 轉反期前 (丙A) 胚子때에 27.54mg/g 으로 最高量을 나타낸 것은 Akao 씨의 結果와 一致함을 알 수 있었으며, Fig. 2 에서와 같이 胚子が 成長함에 따라 감소하다가 孵化直前に 이르러 약간 增加된 것은 胚子成長의 完成段 代謝階로 作用이 緩慢해진 때문이라고 생각된다.

다음 Cholesterol 은 動物의 活性組織에 많다는 사실로 보아 蠶卵胚子形成 및 發育過程에 있어서 Table 2 에서 보는 바와 같이 丙A 胚子에서 4.26mg/g 으로 催靑過程中 가장 많은 量을 나타내고 胚子の 生長이 가장 緩慢한 甲胚子時期에 3.40mg/g 으로 最少量을 나타낸 것으로 보아 total cholesterol 과 triglyceride 의 變動이 一致함을 발견하였다.

그리고 free cholesterol 은 전반적으로 보아 큰 變動이 없는 것으로 보아 胚子の 發育과 關係 없이 始終 一定量을 維持하고 있는 것으로 生覺된다.

Table 3. Analysis of Free Fatty Acid in the Silkworm Eggs During its Development.

Sample No. (Stage)	Kab	Byong-A	Byong-B	Ki-A	Ki-B	Eye.pog mentation
Free Fatty acid	640.0 μ mole/g	257.4 μ mole/g	1,020.0 μ mole/g	1,076.0 μ mole/g	μ mole/g 842.0	mole/g 1,020.0

現狀이라고 생각된다.

D. Glucose 의 實驗結果

Glucose 는 生體內 原形質을 構成하고 있는 한 가지 成分으로 物質代謝過程에서 Energy source 로 重要한 成分이다.

即 이들 化合物은 加水分解되어 1mole 당 2~3kcal 에 10 kcal 에 이르는 free energy 를 낼 수 있는 物質이다. 또 glucose 는 原來 生體內에서 酸化되어 CO₂ 와 H₂O 까지 分解되면서 energy 를 產出하는 것이 그 代謝의 使命이라는 점에 蠶卵胚子 發育過程에서도 많은 變動이 있음을 本實驗結果 確認하였다.

Akao 와 Hironaka 은 蠶兒가 化蛹後 經過日數에 따라 體內 glycogen 이 顯著하게 減少하며 化蛾直前 最少가 된다 하였으며 雌蛾는 雄蛾에 比하여 glycogen 量이 많았다는 것은 蠶卵內에 glycogen 量이 많다는 것을

C. Free Fatty acid 의 實驗結果

蠶卵胚子教育過程에서 free fatty acid 는 實驗結果 Table 3 에서와 같이 丙B에서 1,020.0 μ mole/g 이었고 己A胚子時期에서 1,076.0 μ mole/g 으로 催靑 全過程에서 가장 많은 量을 나타내었으며 反대로 丙A胚子時期에서 257.4 μ mole/g 으로 가장 적은 量이었다. 그러나 胚子 發育中에서 量的인 變動의 差異는 크나 全般的으로 보아 催靑初期로 부터 孵化直前に 이르기까지 增加해 감을 알 수 있다. 그리고 아직까지 遊離脂肪酸이 體內物質代謝過程에서의 確實한 機轉은 잘 알 수 없으나 普遍的으로 glucose 와 相反된 作用을 한다는 점에 비추어 丙A 胚子에서 急激한 減少는 反對로 glucose 가 가장 많은 時期이고 己에서 增加는 glucose 가 減少하는 時期로 Table-4 의 glucose 變動과 一致함을 알 수 있었다.

그리고 triglyceride 와 cholesterol 이 增加된 時期는 丙A이고 있고 free fatty acid 가 가장 增加한 時期는 反轉期後로서 物質轉換에 基因된 結果로 相反된 變動

의미하는 것으로 產卵直後 含量은 蛹體內 全量에 55% 에 해당한다고 하였다.

그리고 Chikushi⁽³³⁾ 는 蠶卵에 各種量의 X-線을 照射시킨 結果 卵에 致死的 影響을 주고 照射量이 많을 수록 發育이 느리며 死卵比率이 增加한다 하였다.

本實驗結果 (Table 4) 標準區에서는 點靑期에 281.2mg/g, γ -Ray 處理區에서도 點靑期에 179.6mg/g 으로 同期에 各各最高量을 나타냈고 己A卵子時期에 標準區가 31.2 mg/g 處理區가 15.6mg/g 으로 催靑 全過程中 最少量을 나타낸 것은 卵子成長과 生理로 보아 反轉期 後孵化 2日前 卵內胚子完成 段階로서 이 때에 活動이 활발하고 호흡量이 急激히 增加하여 Energy 源의 glucose 가 增加된 것이 아닌가 生覺된다. 그리고 標準區에 比하여 γ -Ray 處理區에 glucose 가 量的으로 적은 것은 放射線의 障害⁽¹⁵⁾를 받은 것으로 생각된다.

Table 4. Analysis of Glucose in the Silkworm Eggs During its Development.

Item	Stage Treatment	Byong-B	Ki-A	Ki-B	Eye-pig-mentation	Bluish egg
		Standard	78.1mg/g	31.2mg/g	39.1mg/g	281.2mg/g
Glucose	γ -Ray	46.8mg/g	15.6mg/g	39.1mg/g	179.6mg/g	109.3mg/g

E. Phosphorus의 實驗結果

Phosphorus는 動植物細胞에 重要한 構成成分의 하나로서 一般의 細胞增殖 및 細胞가 活性化 됨에 따라 增加하여 體內 炭水化物 代謝產物로서 triosephosphate나 hexose phosphate의 磷酸化를 爲한 利用率이 增加하게 됨으로 炭水化物이 많은 때에는 磷酸鹽의 減少를 초래한다고 하는 事實에 비추어 glucose 變動과 phosphorus의 變動의 서로 相反된 增減은 이 사실과 一致되는 結果라고 생각된다.

Kurose, T의 報告에서 K_2HPO_4 에 依한 蠶體成長과 糖分에 依하여 成長이 지연되었다는 점에 비추어 糖分

이 吸收되는 것은 物質代謝過程에서 ATP와 作用하여 glucose-6-phosphate로 된 다음 吸收되는 것이 아닌가 生覺되며 ATP는 磷自體가 主成分이라 볼 수 있으며 만약 磷이 缺乏되면 ATP合成이 잘 되지 않음을 暗示하여 glucose의 利用이 잘 이루어지지 않는다] 결과라고 생각된다. 또 Kim⁽⁸⁾은 蠶卵胚子 發育過程에서 細胞分裂과 蛋白質合成에 關與되는 RNA (Ribonucleic acid)의 增加와 同時에 phospholipid가 增加된다고 하였다.

即 phospholipid와 RNA 增加는 細胞活性으로 因하여 物質代謝가 旺盛하다는 것을 의미하며 동시에 蛋白質合成이 旺盛한 細胞일수록 RNA含量이 많은 것을 보

Table 5. Analysis of Organic Phosphorus and Inorganic Phosphorus in the Silkworm Eggs During its Development.

Item	Stage	Byong-B	Ki-A	Ki-B	Eye-piymentation	Bluish egg
	Treatment					
Organic phosphorus	Standard	4.89mg/g	5.23mg/g	3.05mg/g	3.16mg/g	3.63mg/g
	γ -Ray	2.72mg/g	5.39mg/g	5.73mg/g	4.08mg/g	4.01mg/g
Inorganic phosphorus	Standard	3.01mg/g	2.76mg/g	2.61mg/g	2.53mg/g	2.84mg/g
	γ -Ray	2.76mg/g	2.92mg/g	2.13	2.76	3.30

더라도 蛋白質合成과 密接한 關係가 있음을 알 수 있다.

蛋白質이 合成될 때에는 먼저 遺傳情報(genetic code)의 支配를 받게 됨으로 遺傳因子는 Deoxyribo Nucleic acid(DNA)를 構成하고 있는 Nucleotide에 AMP (Adenosine Monophosphate) GMP(Guanosine Monophosphate) CMP (Cytosine Monophosphate) TMP (Thymine Monophosphate)가 一定하게 配列되어 이루어지는 것으로 이들은 다 같이 含磷 有機物에 屬한다. 그러므로 本 實驗結果 Table-5에서 볼 때 Organic phosphorus가 反轉期前 胚子 內部組織 器管 形成 時期 前과 後인 己A胚子에서 5.23mg/g으로 最高를 나타내는 것은 이 時期에 蠶卵內 細胞分裂과 蛋白質合成이 가장 旺盛한 時期라 볼 수 있으며 Km⁽⁸⁾이 報告한 바와 一致하는 結果를 얻었다. 有機物代謝에서 磷이 生命維持에 重要한 機能을 가지고 있다는 것과 物質代謝過程에서 energy貯蓄放出 및 運搬에 있어서 high energy phosphate bond (A.T.P)의 根本的인 역할이라든가 炭水化物 中間代謝時 hexose phosphate 및 triose-phosphate의 重要성과 磷脂質核酸과 같은 磷化合物의 代謝의 意義에 비추어 Table-5에서 Organic phosphorus 및 Inorganic phosphorus가 己A 胚子에서 各各 增加하였다는 것은 生理的으로 이 시기에 phosphorus가 가장 많이 必要로 하게 됨을 暗示하는 것이고 그 後 漸次的 減

소는 호흡량이 增加하고 細胞分裂 및 蛋白質合成이 緩慢해진 結果라고 生覺된다. 그리고 點青期부터 孵化直前に 이르기까지 增加를 보이는 것은 蠶蠶이 今後 卵을 �고 나와 活動에 必要한 energy發動에 基因된 것으로 生覺할 수 있다.

다음 放射線을 照射한 區에서는 催靑初期에 Organic phosphorus가 丙B에서 2.72 mg/g이고 Inorganic phosphorus가 2.76 mg/g으로 最少로서 標準區보다 적은 燻酸化反應에 障礙를 받은 結果라고 보며 그 後 己A 胚子前後에서 標準區보다 增加를 보인 것은 放射線으로 因한 刺戟은 一定한 時間經過함에 따라 回復된 다음 오히려 刺戟되어 燻酸化反應이 촉진된 것이 아닌가 생각된다. 또 Inorganic phosphorus은 催靑卵期(孵化 1日前)에서 3.30 mg/g으로 最高를 나타내는 것은 胚子成長 完成段階에서 蠶蠶의 體被組織이 形成되기 爲한 機質代謝가 旺盛한 結果라고 生覺된다.

V. 摘 要

家蠶卵을 對象으로 하고 試料條件을 Part 1에서는 甲胚子에서부터 催靑시키면서 孵化直前に 이르기까지 Ascorbic acid와 Lipids (triglyceride와 choleserol) 및 free fatty acid를 分析하고 Part 2에서는 試料의 一

部를 丙_B 時期에 放射線 800 γ 에서 40分間 照射시킨 후 標準區와 같은 條件에서 催靑하면서 glucose와 phosphorus를 分析, 比較 檢討하는 동시에 이상의 各種 內容物質의 變動을 生化學的으로 分析한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. Ascorbic acid는 丙_B 胚子에서 319.5 γ /g으로 가장 많았고 그 後 孵化前까지 감소해 감을 알 수 있었다.

2. Triglyceride는 丙_A 胚子에서 27.54 mg/g으로 卵 內細胞가 活性化 되는 時期에 가장 많았고 그 後 胚子가 發育함에 따라 점차적으로 감소하였으며 Total Cholesterol이나 Free Cholesterol은 催靑初期부터 孵化直前까지 큰 變動이 없음을 確認하였다.

3. Free Fatty acid는 Triglyceride가 가장 增加한 丙_A에서 257.4 μ mole/g으로 最少量을 나타내고 反對로 감소되는 己_A에서 1,020 μ mole/g로 增加함을 알 수 있었고 전반적으로 丙_A 胚子가 發育함에 따라 增加되는 結果를 얻었다.

4. Glucose는 標準區 點靑期에 281.2 mg/g으로 가장 많은 增加를 보이고 放射線 照射區에서도 같은 時期 179.6 mg/g으로 最高를 나타내어 同一한 경향을 보이 나 量的으로 γ -Ray 處理區가 적다는 것과 Free Fatty acid 및 phosphorus와의 相反된 變動을 알 수 있었다.

5. 標準區에서 Organic phosphorus는 丙_A에서 5.23 mg/g이었고 γ -Ray 處理區는 己_A에서 5.73 mg/g으로 가장 많은 量을 나타내고 Inorganic phosphorus에서는 약간의 變動이 있을 뿐이다.

放射線 處理區는 Organic phosphorus와 Inorganic phosphorus는 다 같이 催靑初期에는 적으나 己_A以後는 急激히 增加하여 孵化直前에 이르기까지 標準區보다 많았음을 알 수 있다.

以上과 같은 結果를 얻은 것은 今後 蠶種의 取扱 保存에 크게 裨 益될 것으로 生覺된다.

參 考 文 獻

1. Gamahu, H. O.; J. Seri. Japan., 10, 118-120, 1939.
2. Gamahu, H. O.; Ibid ., 11, 205-207, 1940.
3. Gamahu, H. O.; Ibid ., 12, 2, 65-78, 1941.
4. Kim, H. S. et al.; Seoul. Univ. Med. J., 10, 1966.
5. Kim, G. H.; Ibid ., 10, 1968.
6. Kim, W. K. et al.; J. Seri. Korea., 8, 35-40, 1968.
7. Kim, W. K. et al.; Ibid ., 9, 39-42,

- 1969.
8. Kim, H. S. et al.; Ibid ., 3, 23-28, 1963.
9. Kuroda, K. et al.; J. Plant. Animal., 11, 17-20, 1937.
10. Kurose, T.; J. Seri. Japan., 33, 333-338, 1964.
11. Kurose, T.; Ibid ., 34, 405-409, 1965.
12. Kurose, T.; Ibid ., 36, 71-75, 1967.
13. Nielsen, S. O. et al.; J. Biol. Chem., 215, 555, 1955.
14. Nelson, N.; J. Biol. Chem., 153, 375, 1944.
15. TaKaDa, K. et al.; J. Seri. Japan., 28, 186, 1959.
16. Tonking, G. M. et al.; J. Biol. Chem., 201, 137, 1953.
17. Tonking, G. M. et al.; Ibid ., 196, 569, 1952.
18. Duncombe, W. G.; Biochem. J., 88, 7, 1963.
19. Mapson, L. W. et al.; Ibid 62, 248, 1956.
20. Burn, J. J. et al.; J. Biol. Chem., 231, 107, 1956.
21. Sin, H. K.; Seoul. Univ. Med., 2, 6, 1956.
22. Somogyi, M.; J. Biol. Chem., 160, 62, 1945.
23. Sugai, E. G.; J. Seri. Japan., 25-1, 244, 1956.
24. Akao, A. et al.; J. Seri. Japan., 12, 1941.
25. Eak, B. et al.; J. Clin. Path., 24, 1307, 1954.
26. Edward, H. et al.; J. Clin. Chem., 7, 37, 1961.
27. Eino WooAe, YU. et al.; J. Seri. Japan., 5, 80, 1934.
28. Itonsi, Y. et al.; Ibid 40, 188-185, 1951.
29. Isherood, F. A. et al.; Biochem. J., 56, 1, 26, 1956.
30. Udenfriene, S. et al.; J. Biol. Chem., 208, 731, 1954.
31. Yamaguzi, S. D. et al.; J. Seri. Japan., 11, 3, 204, 205, 1940.
32. Walker, A. P.; J. Clin. Inveit., 33, 1358, 1954.
33. Chikusi, H. O.; J. Seri. Japan., 10, 1939.
34. Gibson, S. L. M. et al.; British. Med. J., 1, 52, 1966.
35. Crook, E. M. et al.; J. Biol. Chem., 38, 10, 1944.
36. Fiske and Subn barow.; J. Biol. Chem., 66, 375, 1925.
37. Handel, Van. E.; Clin. Chemistry., 7249, 1946.
38. Horowitz, H.H et al.; J. Biol. Chem., 199, 1652.
9. Hwang, G. S.; J. Med. Korea., 4, 8, 1961.