

家蠶의 休眠性에 關한 免疫學的 研究

馬 永 一* · 朴 光 義**

*農村振興廳 蠶業試驗場 · **서울大學校農科大學

Immunological Study on the Diapause of Silkworm (*Bombyx mori* L.)

Yong Il Mah* · Kwang E. Park.**

College of Agriculture, Seoul National University

SUMMARY

It was found that the diapause in the silkworm egg is induced by the action of the diapause hormone secreted from the suboesophageal ganglion, and "esterase A" affects protein metabolism in oocyte and egg.

In this connection, some changes in protein metabolism of silkworm egg according to embryonic developments could give some information on the diapause, using Ouchterlony Test.

Antigenicity of the protein of silkworm egg was detected through antigen-antibody interaction among the extracts of rabbit blood. Furthermore, existence of the specific antigen was also detected according to embryonic development, using the adsorption test.

The results were obtained as follows:

1. Detection of antigenicity

The antigenicity of silkworm egg was ascertained by inoculating it into a rabbit, but positive results were shown in most of the silkworm eggs tested, whereas the antibody specific to a certain antigen was not detected.

2. Detection of the common antigen

It was demonstrated that most of the antigen could incite the common antibodies, but the specific antibody formation was not detected in a few antigens, even though the nonspecific antibody formation was displayed.

3. Detection of the specific antigen

It is suggested that there are the specific antigens detectable in each treated eggs by the adsorption test.

I. 緒 言

家蠶의 休眠現象을 說明하기 爲해서는 여러가지 假說이 提示되어 왔으나 現在 가장 널리 알려진 것은 Watanabe(1924)의 卵黃細胞質의 抑制質說 및 福田(1951, 1952)의 休眠要因, 長谷川(1951, 1952)의 休眠ホルモン說 등이 있다. 이 중에서 Watanabe의 抑制質說은 越

年性卵의 胚子が 發育을 抑制當하는 物質을 아직 解明하지 못하고 있으나, 福田나 長谷川는 食道下神經球로 부터 越年性을 決定하는 物質이 分泌된다고 하였으며 이것이 卵巢內에서 發育中인 蠶卵에 作用해서 越年性卵이 된다고 하였다. 그러나 福田의 休眠要因은 食道下神經球가 腦의 支配를 받는다고 하고 長谷川는 食道下神經球의 休眠ホル몬의 分泌는 腦의 支配를 받지 않

는다고 하였다. 또한 針塚外 2人(1959)이 發表한 바에 依하면 休眠홀몬은 5齡壯蠶, 번데기 및 나방이의 食道下神經球 및 나방이의 頭部에서도 抽出되고 또 암컷보다 수컷에 많은데 蠶卵에서는 아직 抽出되지 않았다고 하였다.

福田 및 河野(1964)는 蠶卵內에도 休眠要因 및 그것에 關係하는 어떤 物質이 存在하고 있다고 發表했다.

PARK (1970a, 1970b)은 前休眠期에 休眠物質이라고 생각되는 酵素合成이 이루어지고, 이것이 物質代謝를 休眠方向으로 誘導한다고 하였다.

甲斐와 長谷川(1972a, 1972b)는 休眠홀몬이 번데기배에 있어서 炭水化物代謝뿐만 아니라 成熟卵의 蛋白質代謝에도 영향을 미친다고 하였다.

本實驗은 休眠 및 非休眠卵 胚子の 初期發生에 따른 蠶卵內 物質代謝의 差異와 蠶卵蛋白質이 抗原성을 갖고 있는지 또는 蠶卵組成物質의 變化에 따라 形成되는 抗體의 差異로서 抗原의 差異를 免疫學的인 方法을 利用한 分析을 하고자 試圖하였다.

II. 研究史

昆蟲의 遺傳形質中에 環境의 影響을 많이 받는 形質과 比較的 影響을 적게 받는 形質이 있다. 昆蟲중에서도 누에의 幼蟲斑紋 및 卵色 등의 形態의 形質을 支配하는 遺傳子의 發現은 比較的 安定되어 있으나 眠性과 化性等은 매우 複雜하다. 그러나 最近에 眠性 및 化性の 決定은 外的 環境要因과의 關聯에 있어서 홀몬의 介에 의해서 支配된다고 알려졌고 遺傳子와 홀몬과의 關係가 注目되고 있다.

누에에 있어서 化性の 決定은 蠶卵內의 胚子發育을 抑制하는 어떤 物質이 存在한다고 했고(渡邊1924), 梅谷(1925, 1926)은 卵巢移植과 體液移注에 대한 實驗에서 化性決定素의 存在를 내세워 그것을 一種의 酵素作用이라 說明했다. 또한 木暮(1930, 1933)는 着色性物質과 越年性物質을 假定하여 前者는 蠶卵의 着色에 關與하면서 어느 程度 休眠에도 多少 關與한다고 했다. 後者는 주로 蠶卵의 休眠에 關與도 하고 蠶卵의 着色에도 關係한다고 하였다.

三浦(1938)는 休眠卵을 낳는 나방이의 누에 食道下腺(Suboesophageal gland)을 非休眠卵을 낳는 나방이의 누에에 移植한 結果 이누에가 나방이가 되어서 休眠卵을 낳았다. 이와 같은 事實로 보아 食道下腺이 抑制質을 分泌하는 腺이라 했지만 福田(1940)에 의해서 否認되었다.

이와같이 本質的인 化性決定의 生理機構에 對한 確實한 說明은 없지만 休眠홀몬의 作用에 의한다는 것이

널리 알려진 事實이다. 이 以外에도 곤충休眠에 關한 實驗은 많지만 福田(1951, 1952), 長谷川(1951)等에 의해서 統一된 學說이 提唱되었다.

福田는 食道下神經球의 摘出 및 移植實驗을 한 結果 누에에 있어서 休眠卵 및 非休眠卵의 決定은 번데기 時期에 腦, 食道下神經球에 基因한다고 하여 번데기의 食道下神經球가 休眠卵 生成에 必要한 休眠홀몬을 分泌하고 이 分泌는 腦의 支配를 받는다고 하였다. PARK (1970a, 1970b)은 休眠性卵에서는 前休眠期에 休眠物質인 酵素合成이 이루어지고 이 酵素에 의해서 蠶卵內의 物質代謝가 休眠方向으로 이루어 진다고 하였다.

IRWIN과 COLE (1934), HALDANE(1938), IRWIN (1951) 諸氏들은 척추동물의 赤血球를 抗原으로 해서 研究한 한개의 遺傳子는 한개의 抗原성을 갖는다는 假說을 발표한 바 있으며, 이와 關連해서 微細한 遺傳子作用을 觀察한 바 있고 또 生物의 類絲關係에 對한 研究에도 免疫學的인 方法이 通用되어 왔다. 특히 Fox (1949a, 1949b, 1953a, 1953b)는 微細한 遺傳的 差異를 보기 爲해서 免疫遺傳學的인 方法을 利用하였다. 누에에 免疫學的인 方法을 利用한 몇편의 實驗을 볼 수 있으나 이는 青木(1915)의 누에 組織間에 對한 獲得性 免疫에 對한 것이며 宗(1930)의 野蠶의 獲得性 免疫에 對한 實驗이 있다. 또한 吉武(1959)에 의해서 누에 體液을 抗原으로 한 抗體生産力에 對한 實驗도 보고 되고 있다. 그러나 蠶卵 休眠性에 關한 免疫學的인 觀點에서 行한 研究報告는 아직 없는 것 같다. 이와같이 休眠卵과 非休眠卵 사이에 蠶卵內의 物質代謝 및 休眠機作的 差異는 極히 微細하고 定量的으로는 微量의 物質의 差異로 이루어지리라 推測된다. 이에 對한 實驗을 免疫學的인 方法을 利用해서 休眠卵과 非休眠卵 사이에 微細한 差異를 보려고 한다.

III. 析料 및 方法

a. 材料

供試한 누에의 蠶卵은 현재 한국에서 獎勵品種으로 指定되어 農家に 널리 普及된 品種의 原種인 日本種系 蠶 103과 中國種系 蠶 104의 黑種卵과 多化性系인 AKT 黑種卵, 그리고 生種으로는 2化性系統인 中國種系 大造를 試料로서 使用했다. 이 試料卵은 產卵後 모두 溫度 25°C, 濕度 75%에서 使護하였고 蠶卵은 편의상 系統別, 卵齡別로 產卵後 20時間 保護區의 抗原을 A, 48時間 保護區의 抗原을 B, 그리고 多化性系인 AKT 蠶卵에서는 產卵後 20時間區를 C, 產卵後 48時間區를 D, 15°C 에 10日間 보호한 區를 다시 遠心에 따라 E (12000r.p.m./min. 1시간)와 F(5000r.p.m./min 30分

遠心했음), 一化性 日本種 原種인 蠶 103의 產卵後 20時間區 G, 產卵後 48時間區 H, 또 一化性 中國種 蠶 104는 產卵後 20時間區 I, 產卵後 48時間區는 J로 各各區分하였다. 이들 各卵齡別 供用卵을 便宜上 抗原은 대문자 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J로 이에 對應하는 抗體를 小文字 a, b, c, d, e, f, g, h, i, j로 表示했으며 이후부터는 간단히 이 부호로서 기술한다.

b. 方法

1) 抗原 및 抗血清準備

各 卵齡別 蠶卵의 重量에 對해서 5倍量의 200M Phosphate Buffer Solution (pH7.4)를 加하고 이를 乳鉢로 搗碎하였다. 蠶卵內의 組成物質의 抽出液을 만들기 爲해서 搗碎한 蠶卵은 0°C의 冷藏庫에서 1晝夜 放置하였다가 그후 上清液을 冷凍遠心機(Shimadzu 12,000 rpm)로 遠心分離하여 그 上清液을 抗原으로서 使用하였다. 準備된 抗原은 體重 2.5kg~3kg의 토끼의 정맥에 5cc씩 3回 5日間 간격으로 總 15cc를 注射하였고, 3回째 注射일로부터 10日後 動脈으로부터 全採血하여 紗一례(직경 11cm)에 넣어 5°C 冷藏庫에서 하루밤 보관하여 免疫血清을 分離하였다. 分離된 免疫血清은 Screw cap bottle (15cc)에 넣어 -20°C의 冷藏庫에 보관하여 두고 實驗時 使用하였다.

2) 抗原性 調査

蠶卵의 抗原 抗體反應을 보기 위해서 micro slide (2.6cm×7.6cm)에 1.5% Ion Agar Gel (Veronal buffer pH8.6, $\mu=0.05$)로서 3mm의 두께로 하고 Puncher로 구멍을 뚫고 그곳에 同量抗原과 그에 對應하는 抗血清을 넣어 2日間 Gelman 電氣泳動機 Chamber內에서 抗原抗體反應을 觀察하였다.

3) 共通抗原性 調査

本實驗에 供試한 卵齡別 蠶卵間에는 共通的 抗原이 있다고 推測되기 때문에 各 卵齡別 共通抗原의 存在을 알기 爲해서 앞서 行한 方法으로 micro slide 上에 抗原과 抗體를 넣을 구멍간에 거리를 一定하게 파고 Cross-reaction을 觀察하였다.

4) 吸拾法에 依한 特異的 抗原調査

本 試驗에 供試한 누에의 生種卵과 黑種卵 또 卵齡別 蠶卵을 抗原으로 하여 特異的으로 形成된 抗血清과 그 抗原에 對한 非特異的인 抗體와의 反應 即 共通抗原性이 있으리라 상상되며 이들 卵齡別 蠶卵間에 差異도 아주 微細하기 때문에 이 微細한 血清學的 差異를 보기 爲해서는 吸拾法(adsorption-test)에 依했다.

抗血清을 몇 개의 遠心分離器 tube에 0.5cc씩 넣고 그것에 對한 抗原을 여러 段階로 희석하여 0.5cc씩 加한다. 그리고 이것을 잘 교반한 後 37°C에서 2시간 보

호하고 다시 이것을 24시간 동안 5°C의 溫度를 維持시키면서 4000 r.p.m./min로서 30分間 遠心分離시켰다.

各 Tube의 沈澱量을 調査하기 爲해서는 micro-kiedahl로 N量을 積량하여 沈澱量이 가장 많은 沈澱管을 抗血清과 抗原과의 最通 混合比率로서 定하고 이 比率로서 抗原과 抗體를 混合하여 共通抗原을 吸拾하였고 그때의 上清液을 그 抗原에 對한 特異的인 抗血清으로 사용했다. 그리고 吸拾을 行한 後에도 共通抗原이 남아 있는가를 調査하기 爲해서 遠心分離한 抗血清을 그와 對應하는 抗原과의 沈降反應을 보았다. 抗原抗體의 最通比率를 確認하여 吸拾法을 行했다.

IV. 實驗結果

1) 蠶卵의 抗原性

蠶卵의 抗原性을 調査하기 爲하여는 于先 蠶卵단백질의 Molecular Weight를 調査하는 것이 좋겠지만 本實驗에서는 egg albumin의 Molecular weight이 40,000 이상이라는 假定아래 1.5% Ion Agar Gel (Veronal buffer pH8.6, $\mu=0.05$)上에서 一定 抗原에 對해서 그에 對應하는 抗體와의 反應이 形成되느냐 안되는가를 觀察하였다. 生種인 大造 蠶卵의 產卵後 20時間區의 A 抗原과 그에 對應하는 抗體와는 痕跡의으로 나타났고 產卵後 48時間區 B에서는 特異的인 抗原抗體反應이 나타났다. 이들간에 交叉反應을 나타낸 것으로 보아 이 두區 A,B 사이에는 共通抗原을 가지고 있다는 것을 시사하고 있다. 또한 多化性 黑種인 AKT의 C.D.E.F와 一化性 品種인 日本種系 黑種蠶 103과 中國種系 黑種蠶 104 G.H.I.J. 모두 抗原抗體反應을 보였으며 共通抗原性을 보여주고 있다. (Fig. 1-1, Fig. 1-2)

그러나 多化性 黑種인 AKT에서는 產卵後 20時間區 抗原에 對應하는 抗體와의 反應이 나타나지 않았고 一化性 黑種인 蠶 104의 產卵後 20時間區에서 뿐만 아니라 다른 系統도 똑같이 抗原抗體 反應이 나타나지 않았다.

2) 蠶卵의 共通抗原性 檢定

앞에서 본 바와같이 蠶卵을 抗原으로 해서 形成된 토끼血清과 蠶卵抗原間에 抗原抗體反應에 對한 特異的인 抗原抗體反應인지 또는 共通抗原間의 反應인지 確實히 알 수가 없고 Fig. 1-1과 Fig. 1-2에서 보는 바와 같이 卵齡別間에 交叉反應이 매우 강하게 나타나는 것으로 보아 같은 系統內에서 處理別사이와 다른 系統間에도 共通抗原을 가지고 있는 것으로 추측되어 各 抗原과 各 抗體間에 交叉反應을 觀察하였다.

大造品種의 產卵後 20時間區인 A 抗原과 產卵後 48

時間區의 抗原에 對한 抗體 b 와의 사이에 交叉反應이 일어난 것으로 보아 A 와 B 사이에는 共通抗原성을 가지고 있다고 보아진다. 多化性 黑種인 AKT 에서는 產卵後 20時間區 C 와 產卵後 48時間區 D 와는 反應이 없었고 15°C 處理區 E 사이에서도 서로 抗原抗體反應이 일어나지 않았다. 그러나 產卵後 48時間區內, D 에서만 強한 特異的 抗原抗體 反應을 보였고 一化性 黑種에서는 蠶 103의 產卵後 20時間區內 G 와 產卵後 48時間區 H, 蠶 104의 產卵後 48時間區 J 는 Fig. 2-1, 2-4에서 보는 바와같이 모두 強한 交叉反應을 나타내었다.

3) 吸拾法(Adsorption-test)에 依한 特異的 抗原性 檢定

蠶卵의 休眠推과 非休眠性を 決定하는 要素로서 着色性 物質과 越年性 物質이 存在한다는 假說을 세웠으며(木暮 1930, 1933) 長谷川(1951), 福田(1951, 1952) 등은 食道下神經球과 關聯을 지어 休眠홀몬說을 세웠고 PARK(1970)은 前休眠期에 休眠物質이 合成되어 卵內의 物質代謝가 休眠方向으로 들어간다고 하였다. 이와같이 休眠卵과 非休眠卵사이에 蠶卵內에서 物質代謝의 움직임과 그 機作的 差異는 定量的으로 극히 微細하리라 推則된다.

이 共通抗原性 以外에 各 抗原에 對應하는 特異的인 抗體 即, 微細한 血清學的 差異를 보기 위해서 本 實驗에서는 吸拾法(Adsorption-test)에 依하지 않으면 안 되었다.

吸拾法을 行함으로써 系統間 各 卵齡에 따른 特異한 抗原抗體 反應이 있는가를 쉽게 判別할 수 있었으며 그 結果는 다음과 같다.(TABLE 1)

以上과 같이 吸拾法을 行한 後 各 抗原과 그에 對應하는 抗體와의 特異的인 反應은 大造品種의 A 區에서는 特異的인 反應이 없었고 B 區에서만 特異的인 反應이 있었다 (Fig. 3-1). 多化性 品種인 AKT 에서 D 區에서만 特異的인 反應을 보이고 나머지 C.E.F 에서는 전혀 特異的인 抗原抗體反應이 나타나지 않았다 (Fig. 3-1). 이에 反해 一化性 黑種인 蠶 103과 蠶 104의 G.H.I.J 에서는 本 實驗에서는 不確實하다 (Fig. 3-2).

V. 考 察

蠶卵은 產卵後 時間經過에 따라 蛋白態 窒素量이 減少한다고 報告한 바 있으며(中田, 1945), CHEN 은 곤충의 胚子가 發育할 時期에 到達하면 蠶卵內의 物質代謝가 아주 活潑해진다고 하였다.

또한 卵內 Free amino acid 가 減少하는데 이는 새로이 發生되는 器官形成에 利用된다고 하였으며, PARK (1970a)는 休眠卵의 胚子는 產卵 2日後부터는 새로운

Table 1. Precipitation reaction by the adsorption test

Antiserum	Adsorbed by	Antigen				
		B	D	G	H	J
B	L	-	-	—*	-	-
	D	+	-	-	-	—*
	G	+	-	-	-	-
	H	+	+	-	-	-
	J	+	-	-	-	+
D	B	-	+	-	-	-
	D	—*	-	+	+	-
	G	+	+	-	-	-
	H	—*	+	-	-	+
	J	-	+	+	+	-
G	B	+	-	+	+	-
	D	-	-	+	+	-
	G	-	+	-	-	+
	H	+	-	-	-	+
	J	-	-	+	+	-
H	B	-	-	+	+	-
	D	—*	+	+	+	-
	G	-	-	-	-	+
	H	+	+	-	-	+
	J	+	+	+	+	-
J	B	+	-	-	-	+
	D	-	+	+	+	-
	G	-	-	+	+	-
	H	-	+	+	+	-
	J	+	+	-	-	-

Remarks: 1) Positive results; +
Negative results; -
2) Asteria mark: Unexpected results

物質合成을 일단 중지하나 胚子가 이미 休眠에 들어간 後에도 卵黃細胞는 2日동안 合成을 繼續한다고 보고하고 있으며, Irwin 은 척추동물의 赤血球를 抗原으로 한 實驗에서 한개의 遺傳子는 한개의 抗原을 支配한다는 假說을 내세웠다. 이에 蠶卵內 物質代謝에 따라 蠶卵 단백질이 抗原으로서 利用될때 抗體가 形成되리라 생각되었으며 卵齡別 抗原抗體反應이 形成되더라도 吉武(1971)가 發表한 바와 같이 누에의 血液을 抗原으로 할 때 같은 系統內에서 共通抗原性이 存在한다고 하였기 때문에 이들 蠶卵 卵齡別間에도 共通抗原이 있으리라 推測하기는 어렵지 않다.

本 實驗에서도 나타난 바와 같이 產卵後 蠶卵을 一定 溫度인 25°C 濕度 75%에서 保護하는데 따라서 蠶卵內

構成物質의 差異와 蠶卵 단백질의 抗體形成에 對해서는 大造品種의 產卵後 20時間區와 產卵後 48時間區가 서로 共通抗原性을 가지고 있다는 것을 認定할 수 있었고 또한 胚子 發育段階에 따른 各 卵齡에 따라 大造品種에 있어서는 共通抗原性을 가지고 있었다. 그리고 'Gel diffusion' 上에서 이들 卵齡別에 따라 抗原과 그에 對應하는 抗體와 特異的으로 反應이 痕跡的으로 보였다. 이는 抗原準備에 問題가 있는 것이 아니고 抗體形成이 力價 낮게 이루어진 것이 아닌가 생각되며 各 卵齡別 蠶卵間에 交叉反應이 나타난 바와 같이 大造品種의 產卵後 20時間區와 48時間區 사이에 特異的 抗原抗體反應이 形成된 것이 이를 뒷받침 한다. 即 產卵後 20時間區와 產卵後 48時間區 사이에 어떤 物質合成上의 差異라 생각된다.

이와 關聯해서 甲斐와 長谷川(1972)는 蠶卵이 休眠에 들어가면 Esterase A 가 非休眠卵에 비해 活性이 弱해지고 이것이 蠶卵內에 組成物質中 炭水化物 代謝 및 단백질 代謝 등에 影響을 미친다고 하였다. 그리고 이의 活性이 休眠卵에서는 어떤 物質에 의해서 방해를 받든가 휩싸여 있어서 活性이 약해 진다고 하였다.

休眠卵과 非休眠卵 사이에 있어서 단백질 代謝의 差異로 因하여 各 卵齡別 特異的인 抗原抗體反應이 나타날 것으로 推測된다.

그러나 蠶卵內의 物質組成에 있어서 卵에 따라 變化는 있을지라도 그 基本物質은 恒常 同一하기 때문에 이들간에 서로 共通的인 抗原이 存在할 것이며 따라서 各 卵別 共通的 抗原性을 나타내는 交叉反應을 觀察할 수 있었다. 이런 反應은 各 抗原에 對해서 같은 反應을 보였다. 그러나 產卵後 保護時期別 蠶卵內의 組成物質의 變化에 따른 時期別 特異한 단백질 抗原으로 한 抗原抗體反應은 이들 蠶卵이 卵別 特異한 단백질 抗原으로 한 抗原抗體反應은 이들 蠶卵이 卵別 特異한 단백질을 갖고 있다는 것을 시사하며 休眠卵과 非休眠卵에 있어서 혼몬 分泌作用에 依한 卵別 特異한 단백질 合成이 일어난다고 생각되지만 이들 特異的인 抗原抗體反應이 일어난 物質의 成分에 對해서 알 수가 없었다. 이 중에서 B區가 D區도 共通抗原性을 가지고 있었으며 이것은 休眠性卵과 非休眠性卵 사이에 物質代謝의 差異에 基因하는 것이 아닌가 생각된다. 그러나 吸拾法을 行한 結果 B.D.G.J의 特異的인 抗原을 認定할 수 있었으나 이 物質들의 分析은 하지 못했기 때문에 休眠卵과 非休眠卵을 特徵지우는 중요한 役割을 하는 休眠酵素의 作用에 依한 것인지에 對해서는 確實치가 않다.

VI. 摘 要

蠶卵 卵齡別 抽出液을 抗原으로 토끼의 抗血清을 만들고 이들 抗原과 抗體와의 사이에 생기는 反應에 의하여 抗原性을 比較하였다. 그 結果는 아래와 같다.

1) 蠶卵內 卵齡別 組成物質은 토끼의 耳靜脈에 注入하였을 境遇에 大部分의 蠶卵抗原 A.B.D.G.H.J는 抗體를 形成하였으나 그 一部分의 抗原 C.E.F.I에서는 抗體 形成이 識別되지 않았다.

2) 蠶卵 蠶齡別 蠶卵內 組成物質은 生種인 大造 A區, B區와 大造 B區와 AKT 黑種 48時間區 D, 黑種蠶 103과 蠶 104에 있어서 G.H와 J는 서로 共通抗原을 가지고 있었으나 그 一部 即 AKT의 E.F와 蠶 104의 20時間區 I에서는 特異的인 抗原抗體反應을 認定할 수 없었으며 他 抗體, D.E.F와의 사이에서는 非特異的인 抗原抗體反應을 認定할 수 있었다.

3) 各 卵齡別 蠶卵內에는 共通抗原性 物質이 存在하는 것으로 思慮되며 各 卵齡에 따른 特殊抗原性을 보기 爲해서 吸拾法에 의한 試驗을 한 結果 B.D.G.J의 4個의 特異的인 抗原을 認定할 수 있었다.

References

1. 青木薰(1915): 蠶試報 1, 93-120
2. Cumley, R.W. (1940): J.N.Y. Ent. Soc. 48, 265-274
3. Fox, A.S.(1949): J. Immunol. 62, 13-27
4. Hanks, J.H. (1935): J. Immunol. 28, 95-104
5. Hyun S.K. (1949): Cuercus屬 및 Castam屬 樹木의 血清學的 類緣關係 3-5 九州大農學部 練習林報告 第17號 3-87
6. Hasegawa K. (1951): Studies on the voltinism in the silkworm, *Bombyx mori* L. with special reference to the organs concerning determination of voltinism. A preliminary note. Proc. Jap. Acad. 27, 667-671
7. Hasegawa K. (1952): Studies on the voltinism in the silkworm, *Bombyx mori* L. with special reference to the organs concerning determination of voltinism. J. Fac. Agri. Tottori Univ. 1, 83-124
8. Irwin, M.R.K. & L.J. Cole (1936): J. Exp. Zool. 73, 85-108
9. KAI Hidenori & Kinsaku Hasegawa K. (1972a, 1972b): Studies on the mode of action of the diapause hormone with special reference to the protein metabolism in the silkworm, *Bombyx mori*

- L. (Electrophoretic protein patterns and esterase zymograms in ovaries and mature eggs of *Bombyx mori* L. in relation to diapause, effect of acid treatment and detergens on esterase A in diapause eggs.) *Seri. Sci. Jap.* 40, 199-208, 41, 253-262
10. Narumi Yoshitake (1954) : 鱗翅目昆蟲의 化性에 관한 研究(1) 家蠶卵의 着色性에 미치는 化性홀몬의 作用에 대해서 *日蠶雜* 23, 67-75
 11. Narumi Yoshitake (1959) : 家蠶의 免疫遺傳學的 研究 : *日蠶雜* 28-4, 204-210
 12. PARK Kwang E & Narumi Yoshitake (1970a) : A radioautographic study of diapause in the silkworm, *Bombyx mori* L. *J. Insect physiol.* 16, 1655-1663
 13. PARK Kwang E & Narumi Yoshitake (1970b) : Function of the embryo and yolkcells in diapause of the silkworm, *Bombyx mori* L. *J. Insect Physiol* 16, 2223-2239
 14. Philip L. Carpenter : *Immunology and Sorology*
 15. 宋正雄 (1930) : *日蠶雜* 1, 1-13
 16. S. Fukuda (1952) : Function of the pupal brain and suboesophageal ganglion in the production of non diapause and diapause eggs in the silkworm. *Annot. Zool, Jap.* 25, 149-155
 17. S. Fukuda (1951) : The production of diapause eggs by transplanting the suboesophageal ganglion in the silkworm. *Proc. Jap. Acad.* 27, 672-677
 18. 千賀崎義香 (1930) : *日蠶雜* 1-3
 19. 高見丈夫 (1969) : 蠶卵의 化性と 休眠生理, *蠶種總論 全國協會 會刊 東京* 141-200
 20. Watanabe K. (1924) : Studies on the voltinism in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Bull. Seri. Exp. Sta.* 6, 411-455
 21. Weir : *Experiments in Serology*
 22. 山村雄一 : Antigenicity of poly peptide (poly-amino, 615-3705) starch gel immunoelectrophoresis *免疫化學*
 23. 山村雄一 : The effect of routine of injection *免疫化學*

Identification of antigenic protein by the Gel Diffusion Test throughout Fig. 1-1 1-2.

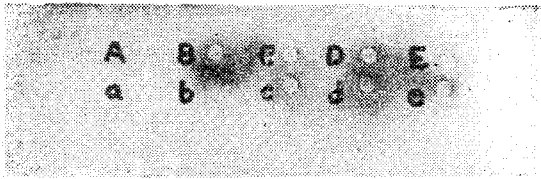


Fig. 1-1 The symbols A,B,C,D,E,F represent its antigens which are placed at thf upper wells and a,b,c,d,e,f, are the orresponding atibodies at the lower wells.

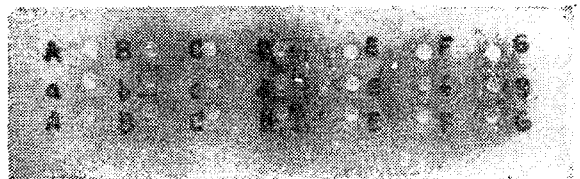


Fig. 2-1 Detection of the common antigenicity among the various antigens and antibodies.



Fig. 1-2 The symbols F,G,H,I,J, are placed in the upper wells and f,g,h,i,j, in the lower wells are specific to antigens. Numerous reactions indicated that interaction formation is made among antigens related to antibodies.

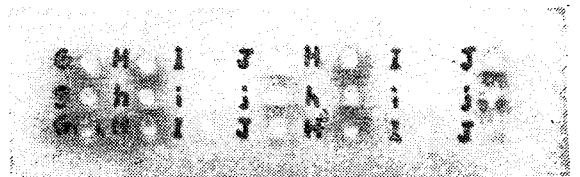


Fig. 2-2 The various antigens are placed in the wells at the both sides and the corresponding antibodies in the center wells.

Detection of the common antigenicity

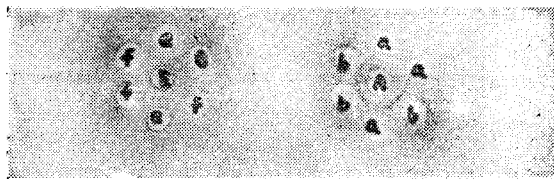


Fig. 2-3 Detection of the common antigenicity among A,B,C,D,E,F,G, and H,

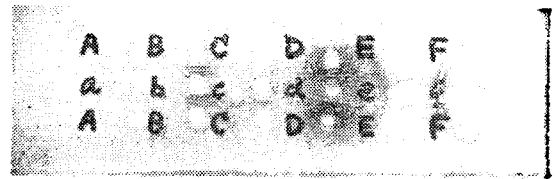


Fig. 3-1 Antigen-Antibody Interaction on the Ion Agar Gel Diffusion Test according to the silkworm egg.

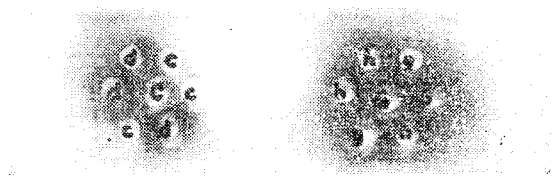


Fig. 2-4 The antibodies are surrounded with the various antigens for the reciprocal reaction.

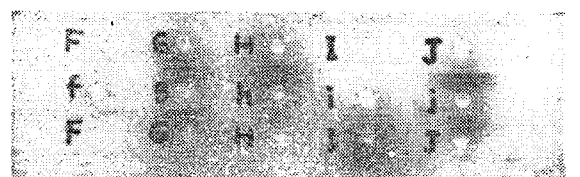


Fig. 3-2 The antibodies are surrounded with the various antigens for the reciprocal reaction.