

家蠶造成卵의 螢光物質과 遊離아미노산의 變化

成 洙 一 · 朴 光 義 · 金 周 沔*

서울대학교 農科大學, *忠北大學

Changes of Fluorescent Substances and Free Amino Acids in Formed Eggs of the Silkworm(*Bombyx mori*)

Soo Il Seong · Kwang E. Park · Joo Up Kim*

College of Agriculture, Seoul National University

*Chung Buk University

SUMMARY

This experiment was attempted to investigate the effect of removal of suboesophageal ganglion of *Bombyx mori* on the changes of free amino acids and fluorescent substances by means of paper chromatography.

1. There are no differences of quantity and component of free amino acids of formed eggs in moths between treatment and control.
2. Riboflavine content of formed eggs in treated moths is less than that of formed eggs in untreated moths.
3. Fluorescent substance which appeared on Rf value 0.06 was not detected in formed eggs of treated moths but found in those of control.
4. Fluorescent substance which appeared on Rf value 0 was noted in formed eggs of treated moths but not in those of control.

I. 緒 言

家蠶卵의 休眠이 蛹에서 成蟲에 이르는 時期에 食道下神經球(以下 S.G라고 함)에서 分泌되는 休眠物質에 의해서 이루어진다고 發表된(Hasegawa, 1951; Fukuda, 1951) 以來 S.G의 摘出 및 移植實驗에 의한 休眠性 및 非休眠性間의 蛹體液, 卵巢, 發育中의 卵 및 成蟲蛾內의 造成卵 等 여러 組織內에서의 物質代謝를 추구하는 研究가 많은 學者들에 의하여 시도되었다.

즉, 炭水化物代謝에 關係서는 Chino(1957), Yamashita와 Hasegawa (1964, 1965, 1976), Yamashita 등 (1972)의 報告가 있고 蛋白質代謝에 關係서는 Kai와 Hasegawa (1971, 1972-a, 1972-b) 등의 報告가 있다. 그 밖에 脂質代謝에 關係서도 Hasegawa와 Yamashita(1967) 그리고 Ichimasa와 Hasegawa (1973)가 休眠과 관련해서 研究한 報告가 있다, 以上の 報告를 綜合해 보면 休眠性 및 非休眠性 間에는 SG에서 分泌되는 物質에 따라서 發育中인 蠶卵內의 各種物質 즉 炭水화물 단백질 지방 및 핵산등의 含有量에 差異가 보이거나

때로는 休眠 혹은 非休眠 特異의 成分差에 의하여 休眠性이 決定되는 것으로 생각된다. 한편 休眠現象을 아미노산 Level에서 추구해 본 研究도 있다. 吉武(1954)는 生種과 黑種間의 遊離아미노산의 差異를 調査함과 同時에 그는 休眠홀몬이 蛹體內에 存在하는 卵色素原인 3-hydroxykynurenine과 Kynurenine을 卵內로 移行케하는 作用을 한다고 하였으며 成과 朴(1973, 1977)은 産卵後 胚子의 發育에 따르는 遊離아미노산의 變化를 調査한 結果, 산란후 24~48時間의 非休眠卵에서는 Cystine이 Cysteine으로 完全히 轉化하며 같은 時期의 休眠卵에서는 Alanine이 특이하게 急増한다고 報告하였다.

이와같이 蠶卵의 休眠을 支配하는 SG分泌物的 正體가 무엇인지는 여러학자들의 수 많은 研究에도 불구하고 아직 밝혀지지 않고 있으며 최근 Isobe 등(1976)은 200餘萬마리의 숫누에 나방의 머리를 절제하여 活性을 나타내는 休眠홀몬(D.H) A와 B를 추출하는데 成功, 그들은 各各 3,300과 2,000정도의 分子量을 갖는다고 발표하였다.

성과 박(1976)은 化蛹 3日째의 休眠性蛹의 SG를 Grace 배양액에서 體外배양하여 그 배양산물을 非休眠性蛹에 Bioassay한 結果 休眠卵과 非休眠卵의 混合卵을 産卵시키는데 成功하여 休眠物質의 體外生成이 可能하다고 報告하였다.

계속해서 本研究에서는 休眠性蛹의 SG를 제거한 것 과 아닌 것 間의 成蟲蛾內 造成卵의 遊離아미노산과 紫外線형광物質의 差異를 調査하였다.

II. 材料 및 方法

實驗에 使用된 누에는 2化性 한쌍 1×한쌍 2의 休眠卵性 交雜種이다. 化蛹直後 SG를 除去하고 시술후 化蛾까지 25°C로 보호하였다.

化蛾當日 SG제거구와 正상의 처너나방의 복부를 절개 造成卵을 꺼내어 증류수로 깨끗이 씻은 후 200粒을 取하여 80% Ethanol에서 충분히 마쇄한 후 造成卵의 遊離아미노산 추출에 使用했다.

그 밖에 시료조제 및 아미노산分析은 前報(成, 박 1973)에 準하며 展開가 完了된 Paper上的 형광성物質은 자외선등으로 檢出하였다.

III. 實驗結果

Paper Chromatography法에 依한 처너나방의 造成卵에 存在하는 遊離아미노산을 Cystine, Aspartic acid, Glutamic acid, Serine, Glycine, Threonine, Alanine, Valine, Leucine등이 었으며 그들의 Chromatogram上에서의 位置는 그림과 같으며 相對的 量은 표 1과 같다.

化蛹直後 SG적출구와 正常區간의 處女蛾의 造成卵에서는 遊離아미노산의 差異를 認定할 수 없었다. 즉

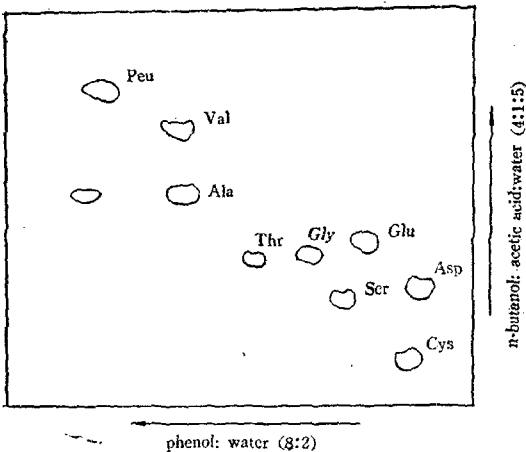


Fig. 1. Free amino acids in formed eggs of virgin moths.

兩區 사이에는 아미노산의 種類나 量的으로 같았다.

Table 1. Free amino acids in formed eggs of virgin moth

Treatments	-SG	Control
Amino Acid		
Cystine	++	++
Serine	+++	+++
Aspartic acid	+	+
Glutamic acid	+++	+++
Glycine	++	++
Threonine	++	++
Alanine	++	++
Valine	++	++
Leucine	++	++

+ Relative quantity.

한편 紫外線燈에 의한 螢光物質에는 兩區間에 差異가 있었다. 이제 n-butanol : Glacial acetic acid : Water (4 : 1 : 5)의 용매를 使用하여 1次元 展開에 의해 나타난 卵內 螢光性物質의 Rf值과 그의 性狀을 보면 표 2와 같다.

Table 2. Fluorescent substance in formed eggs of virgin moth

Substance	Rf value	Colour	-SG	Control
Unknown	0.89	Light yellow	±	±
Riboflavine	0.45	Yellow	+	+++
Leucopterine B	0.3	Blue	++	++
Leucopterine	0.15	Light blue	+	+
Unknown	0.06	Yellow brown	-	++
Unknown	Origin	Dark blue	++	-

+ Relative quantity.

- No reaction.

표 2에서의 같이 處女蛾의 造成卵內에서는 Riboflavine, Leucopterine B, Leucopterine 以外에 確認되지 않은 3개의 未知物質을 包含하여 모두 6종의 螢光物質이 檢出되었다.

특히 SG적출구에서 Riboflavine의 양은 正상의 約 1/3程度로 少量檢出되었으며 Rf值 0.06을 나타낸 朱紅色의 物質은 正常區에서만 特異하게 檢出되고 SG적출구에서는 없었으나 原點에 있는 靑色螢光物質은 SG제거구에서만 檢出되었다.

IV. 考 察

吉武(1954)는 産卵直後 卵內에는 아미노산이 10여종

에 불과하지만 알이 休眠固有의 着色을 나타내며 胚子가 休眠에 접어들면서 그 수는 急激히 增加한다고 하였다.

成과 朴(1973)도 休眠卵에서 産卵後 2일이 지나면 Proline과 Tryptophane이 새로이 出現하고 Threonine과 valine이 增加한다고 하였으며 또한 산란초 生種과 黑種과의 比較에서 시간이 경과 함에 따라 아미노산이 증가하는데 그 증가정도는 생종보다 黑種에서 더 뚜렷하다고 하여 吉武와 見解를 같이 하였다(成·朴, 1977).

本 實驗에서도 成蟲蛾內的 造成卵에는 Cystine, Aspartic acid 등 10여종 以內的 아미노산이 유리상태로 存在하고 있었다. 그리고 SG적출구(非休眠性)와 正常區(休眠性)와의 比較에서 아미노산의 종류나 그 含量에 거의 差異를 인정할 수 없었다. 따라서 SG에서 分泌되는 休眠物質이 어떤 特定の 아미노산과 作用하여 장차 알의 休眠性 決定에 參與한다고는 생각할 수 없다. 다만 SG제거라는 實驗을 통하여 본 休眠性 및 非休眠性 成蟲蛾內的 造成卵에서 總단백질양에는 差異가 없으나, TCA不溶/酸性 Ethanol 可溶分劃을 갖는 卵內 단백질 中 하나의 단백질이 SG적출구와 有關하다는 報告(Kai, Hasegawa, 1972-a) 및 같은 SG제거 실험에서 休眠性蛾의 造成卵은 非休眠性에 比하여 活性이 뚜렷한 하나의 단백질 Band가 電氣泳動的으로 밝혀졌다는(Kai, Hasegawa, 1972-b) 일련의 단백질대사에 관한 研究를 고려하면, 본 실험은 遊離아미노산의 Level뿐만 아니라 단백질構成아미노산도 酸加水分解하여 休眠性 및 非休眠性間의 차이를 좀더 追究할 필요성을 느낀다.

한편 紫外線 螢光物質에는 休眠性和 非休眠性間에 뚜렷한 差異가 認定되었다. 有賀等(1952)은 蠶卵에서 Kynurenine, Xanthopterin B, 3-hydroxykynurenine, Riboflavine, Lencopterin B, Leucopterin 等の 螢光物質을 檢出하였고 불월년란과 월년란의 比較에서 불월년란에는 3-hydroxykynurenine이 전혀 檢出되지 않았고, 第1白卵(W₁)에서의 Kynurenine 양은 불월년란이 월년란에 比해서 적었다고 하였다. 그 밖에 Riboflavine, 과 Xanthopterin B 등 다른 螢光物質에는 兩者間에 差異가 없다고 하였다. 吉武(1954)도 化性홀몬은 卵巢와 卵管에 作用해서 蛹體內에 存在하는 卵色素인 3-hydroxykynurenine, Kynurenine 및 아미노산의 卵內로의 移行을 可能케 해 준다고 하였다. 그러나 Riboflavine과 같이 化性홀몬과 無關하게 卵內로 移行하는 物質도 있다고 하였다.

本 實驗에서도 Leucopterin B와 Leucopterin 및 단 황색의 未知物質이 SG적출구와 對照區間에 差異없이

存在하였으나 Riboflavine은 SG제거에 의하여 1/3정도로 그 양이 적었다. 이 差異만큼의 Riboflavine이 장차 休眠化에 어떻게 關여하는지는 알 수 없으나 Riboflavine이 Flavin酵素生合成의 한 構成成分으로 이 酵素가 生物의 正常的인 酸化 還元作用에 필수적인 촉매라는 點에서 非休眠卵內的 Riboflavine 감소는 좀더 追究할 문제이다.

螢光物質中에 처리와 대조간에 보다 큰 差異는 原點 부근에서 나타난 未知의 物質이다. 즉 原點에서 짙은 靑色을 띠우는 物質은 SG적출구에만 出現하고 Rf 0.06에서 朱紅色을 띠우는 物質은 正常區에서만 나타난다. 이 2種의 物質은 SG적출구와 대조구에 特異하게 나타나는 것으로 보아 蠶卵의 休眠과 非休眠과도 밀접한 關係가 있을 것으로 생각되나 아직 그 正體가 不明한 現在로서는 그들의 기능을 논할 수 없으며 追究 研究 課題로 남긴다.

V. 摘 要

家蠶에 있어서 食道下神經球의 적출이 蠶蛾內的 造成卵內的 아미노산 및 紫外線螢光物質의 變化에 미치는 영향을 Paper Chromatograph法에 의해 調査하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

- 1) 蠶蛾의 造成卵內에 存在하는 遊離아미노산의 種類나 量이 SG적출구와 대조구사이에 差異를 나타내지 않았다.
- 2) 螢光物質인 Riboflavine이 SG적출구인 나방의 造成卵內에는 대조구보다 적었다.
- 3) Rf值 0.06을 나타낸 朱紅色의 螢光物質은 SG를 적출한 나방의 造成卵內에서는 전혀 檢出되지 않았으나 對照區에서는 檢出되었다.
- 4) 原點에 나타난 靑色의 螢光物質은 SG를 적출한 나방의 造成卵內에서만 檢出되었으나 對照區에서는 檢出되지 않았다.

引 用 文 獻

- (1) Chino H. (1957) Carbohydrates metabolism in diapause egg of the silkworm, *Bombyx mori*. I. Diapause and the change of glycogen content. Embryologia 3, 295-316.
- (2) Fukuda S. (1951) The production of diapause eggs by transplanting the subesophageal ganglion in the silkworm. Proc. Jap. Acad. 27, 672-677.
- (3) 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.
- (4) Hasegawa K. and Yamashita O. (1967) Control of metabolism in the silkworm pupal ovary by the diapause hormone. *J. Sericult. Sci.* 36, 297-301.
 - (5) Ichimasa Y. and Hasegawa K. (1973) Studies on the mode of action of the diapause hormone with special reference to lipid metabolism in the silkworm, *Bombyx mori* L. I. Effect of the hormone on lipid in pupal ovaries and matured eggs. *J. Sericult. Sci.* 42, 380-392.
 - (6) Isobe M., Hasegawa K., Kubota I. and Goto T. (1976) Diapause hormone B; Its selective extraction and isolation from the silkworm, *Bombyx mori*. *Agr. Biol. Chem.* 40m 1189-1199.
 - (7) Kai H. and Hasegawa K. (1972a) Electrophoretic protein patterns and esterase zymograms in ovaries and mature eggs of *Bombyx mori* in relation to diapause. *J. Insect Physiol.* 18, 133-142.
 - (8) Kai H. and Hasegawa K. (1972b) Studies on the mode of action of the diapause hormone with special reference to the protein metabolism in the silkworm, *Bombyx mori* L. III Effects of acid-treatment and detergents on 'esterase A' in diapause eggs. *J. Sericult. Sci.* 41, 253-262.
 - (9) Park K. E. and Seong S. I. (1976) In vitro diapause substance in the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* 22, 201-206.
 - (10) Seong S. I. and Park K. E. (1973) Changes in free amino acids of the diapause eggs of *Bombyx mori*. *J. Sericult. Sci.* 42, 340-345.
 - (11) Seong S. I. and Park K. E. (1977) Cystine Conversion and alanine accumulation in the silkworm eggs (*Bombyx mori*). *Seoul Natl. Univ. Coll. of Agric. Bull.* 2, 363-367.
 - (12) Yamashita O. and Hasegawa K. (1964) Studies on the mode of action of the effect of diapause hormone on the glycogen content in ovaries and the blood sugar level of silkworm pupae. *J. Sericult. Sci. Jap.* 33, 407-416.
 - (13) Yamashita O. and Hasegawa K. (1965) Studies on the mode of action of diapause hormone in the silkworm, *Bombyx mori* L. V. Effect of diapause hormone on the carbohydrate metabolism during the adult development. *J. Sericult. Sci. Jap.* 34, 235-243.
 - (14) Yamashita O. and Hasegawa K. (1976) Diapause hormone action in silkworm ovaries incubated in vitro: ^{14}C -trehalose incorporation into glycogen. *J. Insect Physiol.*, 22, 409-414.
 - (15) Yamashita O., Hasegawa K. and Seki M. (1972) Effect of the diapause hormone on trehalose activity in pupal ovaries of the silkworm, *Bombyx mori*. *Gen. Comp. Endocr.* 18, 515-523.
 - (16) 吉武成善(1954) 鱗翅目昆蟲の化性に關する研究 (I) 家蠶卵の着色性に及ぼす化性 Hormone の作用について. *日蠶雜* 23, 67-75.