

## 天蠶(*Antheraea yamamai*) Vitellin의 分離와 生化學的 特性에 관한 研究

### 1. Vitellin의 分離와 同定 및 胚子發生에 따른 變動

金啓明 · 文在裕\* · 李相夢 · 尹馨珠  
農村振興廳 蠶業試驗場 · \*서울大學校 農科大學

### Studies on the Purification and Biochemical Properties of Vitellin in the *Antheraea yamamai* Guerin-Meneville

#### 1. Isolation and Purification of Vitellin and its Change to Embryonic Development

Kye Myeong Kim, Jae Yu Moon,\* Sang Mong Lee and Hyung Joo Yoon  
Sericultural Experiment Station, R.D.A., Suwon, Korea. \*College of Agriculture, Seoul  
National University, Suwon, Korea.

#### Summary

*Antheraea yamamai* vitellin was purified from matured eggs by polyacrylamide gel electrophoresis, also stage dependent appearance, immunological comparison and relative content of the protein were investigated.

1. Vitellogenin, the precursor of vitellin, was first detected in the larval hemolymph at the late spinning stage by polyacrylamide gel electrophoresis and immunoelectrophoresis.
2. The electrophoretic mobility of the vitellin was identical with that of *Bombyx mori* and of *Bombyx mandarina*. However, the specific antiserum against *A. yamamai* vitellin did not react with either that of *Bombyx mori* or *Bombyx mandarina* in immuno-diffusion test.
3. Relative content of *A. yamamai* vitellin to the total soluble egg protein was 46.0 percent and did not change till eight days after oviposition. But the content started to decline from ten days after oviposition and was negligible in the five or seventeen month old eggs.

#### 緒 論

昆蟲의 vitellin은 卵黃主蛋白質이며, vitellogenin은 vitellin의 전구물질이다.

昆蟲에 있어서 vitellin은 卵黃形成에 불가결한 物質로서, 주로 胚子發生 過程중에서 주요한 營養源으로 이용되고 있으나, 아직까지 그 生理的 機能이나 特性 등에 있어서 불분명한 점이 많다.

昆蟲의 vitellogenin에 대한 연구는 최초로 Telfer

등(1953, 1954)이 Cecropia蠶(*Hyalophora cecropia*)의 암컷 體液에서만 檢出되는 소위 雌性 特異蛋白質의 존재를 보고한 이래, 지금까지 많은 연구가 이루어지고 있다. 누에에 있어서도, 稻神(1954)가 家蠶의 體液 蛋白質이 雌雄에 따라 量比의 差가 크다는 것을 보고 하였으며, 點澤 등(1960)은 家蠶의 成蟲分化에 따른 體液 蛋白質의 含量변화를 濾紙電氣泳動으로 조사하여 熱蠶期에도 雌性에만 나타나는 “M成分”이 존재 한다고 보고 하였다.

그 후에도 家蠶 體液에서 雌性 特異 蛋白質의 존재

가 여러 연구자들에 의하여 보고 되었다(Nakasone와 Kobayashi, 1965; 江口 등, 1966; 土井良, 1968).

한편, Shigematsu(1958, 1960)는 家蠶 培養脂肪體에 放射性 아미노산을 사용하여 Net synthesis 방법으로 蛋白質 합성을 시도하여 주요 體液 蛋白質이 脂肪體에서 합성된 후, 體液으로 방출 된다는 것을 증명함으로써, 昆蟲 體液 蛋白質의 합성정소를 처음으로 밝히는데 되었다. 또 卵巢移殖과 免疫의 방법 등의 도입으로 vitellogenin이 昆蟲의 脂肪體에서 합성되어 體液으로 방출된 뒤 卵包細胞간의 간격을 통하여 들어가서 卵母細胞에 축적 되었다가 卵黃 主蛋白質인 vitellin으로 된다는 것이 여러 昆蟲에서 상세히 밝혀졌으며(Pan 등, 1969, 1971; Brooks, 1969; Engelmann, 1969, 1971, 1974; Engelmann과 Ladduwahetty, 1974; Doira와 Kawaguchi, 1972), Ono 등(1975)은  $C^{14}$ -Leucine을 사용하여 生體와 器內 실험결과 家蠶의 脂肪體에서 합성된 雌性 特異 蛋白質이 體液으로 방출되어 卵母細胞를 거쳐서 卵黃에 축적 된다는 것을 재 확인하였다.

Vitellogenin은 일반적으로 昆蟲의 成蟲체의 體液에서 검출되지만(Wyatt와 Pan 1978), 家蠶에서는 蛹化 후 번데기의 體液에서 검출되고 있다(Ono 등, 1975; Izumi 등, 1980a).

지금까지 昆蟲의 vitellin의 分離·精製에 대하여도 많은 연구가 이루어 졌다. 즉 家蠶에서는 Chino 등(1969, 1976), Izumi 등(1980b), 井口와 中井(1978), Tojo 등(1980); *Leucophaea maderae*(마귀科)에 있어서는 Dejmál과 Brooks(1972); 물무치에 있어서는 Chen 등(1978)이 각각 vitellin을 분리·정제 하였다.

*Aedes aegypti*(모기科; Fallon 등, 1974) 및 *Sarcophaga bullata*(Flesh Fly; Huybrechts와 de Loof, 1977)에서는 ccdysteroid가 vitellogenin의 합성에 관여한다고 보고되고 있지만, 대부분의 昆蟲에서는 幼若호르몬이 vitellogenin의 합성에 관여하고 있다고 보고되고 있다(Brooks, 1969; de Loof와 de Wilde, 1970; Engelmann, 1971, 1979; Dejmál 등, 1972; Koeppe와 Offengand, 1975; Thomson 등, 1976; Buhlman, 1976; Pan과 Wyatt, 1976; Chen 등, 1978; Mundal과 Tobe, 1979).

한편, Ono 등(1975)에 의하면 家蠶에 있어서 5齡 幼蟲期부터 蛹期에 걸쳐 雌性의 주요 蛋白質은 貯藏蛋白質, 低分子量 蛋白質, vitellogenin의 순서로 體液중에서 방출 된다고 한다.

대부분의 昆蟲에서 vitellin은 卵黃蛋白質의 약 80%를 차지하며(Engelmann, 1979; Hagedorn과 Kunkel,

1979) 卵 成熟과 胚子發生에 있어서 없어서는 안될 蛋白質은 아니라고 하나(Yamashita와 Irie, 1980), 대체로 중요한 역할을 담당하고 있을 것으로 推察되어 왔다. 그러나 누에의 vitellin은 卵黃蛋白質의 약 40%에 불과하며, 胚子發生에 있어서도 필요불가결한 물질은 아니라고 보고되고 있다(Irie와 Yamashita, 1980).

이상과 같이 家蠶(*Bombyx mori*) 등 고치를 짓는 여러 昆蟲의 vitellin이 분리 정제되어 그 生化學의 特性 등이 밝혀져 있지만 근래 산업적 가치가 큰 昆蟲인 天蠶의 vitellin에 관한 연구는 그다지 많지 않다.

家蠶이나 桑蠶(*Bombyx mandarina*) 등 고치를 짓는 昆蟲의 알은 대부분 卵態越冬이지만, 天蠶의 알은 產卵後 1주일 이내에 이미 알속에서 유충의 형태로 越冬을 하는 昆蟲으로 근래 우리나라에서 産業化에 대한 연구가 시급한 과제로 대두되고 있어 飼育의 生理生態의 연구는 많이 이루어 지고 있다. 그러나 다른 昆蟲에서는 알것에는 있고 수컷에는 없는 vitellogenin의 存在와 알에서의 vitellin 대한 生化學의 特性 등이 많이 알려져 있으나 天蠶에서는 이러한 점이 명확히 밝혀진 바가 없어 이에 대한 연구를 목적으로 본 연구를 수행하였다.

본 연구에서는 天蠶의 發育段階에 따른 體液蛋白質의 變動樣相調查, vitellin의 分離·精製 및 家蠶과 桑蠶 vitellin과의 유사성을 免疫學的인 方法으로 비교 검토 하였다.

## 材料 및 方法

### 1. 實驗用 昆蟲

蠶業試驗場에서 보존하고 있는 제주도산 天蠶과 蠶業試驗場 뽕밭에서 채집한 桑蠶를 사용하였다.

### 2. 完成卵 採取 및 卵蛋白質 抽出

發蛾當日 꼬미진 암나방의 腹部를 절개하여 完成卵이 들어있는 卵管을 꺼내어 인산완충액(PBS, pH 7.0)으로 3~4회 씻어 불순물을 제거한 다음  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 냉동 보관하였다가 필요할 때마다 꺼내어 5배의 PBS(V/W)로 희석하여 마쇄한 후 12,000rpm에서 20분간 低溫遠心分離하여 上澄液을 실험용으로 사용하였다.

### 3. 天蠶 vitellin의 分離·精製

天蠶卵에서 추출한 단백질은 7.5%의 slab型 polyacrylamide gel을 지지체로 하여 電氣泳動한 후 螢光등 밑에서 淡綠色의 天蠶 vitellin band를 육안으로 식별하여 해당부위를 잘라내어 잘게 썰어서 1.5ml의 小形 遠心 튜브에 넣고 0.04M tris~0.38M glycine 완충액(pH 8.3)을 사용하여 2~3일간  $5^{\circ}\text{C}$ 에서 용출시켰다.

#### 4. Slab型 polyacrylamide gel을 이용한

##### 電氣泳動

電氣泳動은 Davis(1964)의 方法에 準하여 실시하였다. 즉 농축 gel의 농도는 3.4%, 분리 gel의 농도는 7.5%였고 0.04M tris~0.38M glycine 완충액 (pH 8.3)을 사용하였다. 泳動試料가 농축 gel을 지날때까지는 20mA, 분리 gel을 지나면서부터 40mA로 通電하여 bromophenol blue(BPB)가 泳動槽의 양극 끝의 1cm 정도에 이르렀을때 泳動을 終了하였다. 染色은 coomassie brilliant blue R-250 0.05% 용액에 상온에서 12시간 하였고, 7% acetic acid로 48시간 脫色하였다.

##### 5. 抗血清 調製 및 免疫電氣泳動

天蠶蛾로부터 채집한 完成卵 3g에 3배의 PBS를 가하여 5°C에서 충분히 마쇄한후 12,000rpm에서 20分間 低溫遠心하여 上澄液을 抗原으로 사용하였다.

天蠶卵에서 추출한 蛋白質液을 같은 量의 Freund's complete adjuvant와 충분히 혼합하여 Newzealand white 수토끼의 가슴 및 등부에 0.5ml씩 4개 장소에 나누어 1주일 간격으로 4회 皮下注射 하고 5주째에 採血을 하였다. 採血한 血液은 常溫에서 2시간 방치후 5°C에서 하룻밤 冷藏보관하여 上澄血清을 분리하여 56°C에 30분간 처리후 10% NaN<sub>3</sub>를 血清量의 최종농도가 0.1%되게 넣고 10,000rpm으로 10분간 遠心하여 上澄液을 -20°C 以下에 저장 하였다가 필요시에 꺼내어 抗血清으로 사용하였다.

免疫擴散은 Ouchterlony(1968)의 方法에 準하여 실시하였으며, agarose gel의 농도는 1.2%였고 0.014M veronal-acetate 완충액을 사용하였다.

免疫電氣泳動은 veronal buffer(pH 8.6,  $\mu=0.05$ )를 사용, 12×8cm 유리판에 1.2% agarose gel(두께 1.5mm)을 지지체로 2mA/gel cm의 전류를 通電하여 BPB line이 原點으로부터 4cm정도 이동하였을 때(약 2시간 소요) 泳動을 終了하였다.

Vitellin에 대한 抗血清 製造는 天蠶의 卵抽出物에 대한 抗血清에 容量比로 1.8배의 4齡 幼蟲體液을 吸着 反應시켜서 vitellin과 卵特異蛋白質에 대한 抗體단을 얻었으며 本 研究에서 卵特異蛋白質에 대한 抗體는 고려하지 않았다.

## 結果 및 考察

### 1. 天蠶 vitellin의 分離·精製 및 同定

#### 1) Vitellin의 分離·精製 및 免疫學的 檢定

##### (1) Vitellin의 分離·精製

家蠶에서는 vitellin이 幼蟲의 脂肪體에서 합성되어



Fig. 1. Identification of purified vitellin by polyacrylamide slab gel electrophoresis.

IV<sub>1</sub>, hemolymph of one day old larva in the fourth instar; Egg, total egg extract protein; PVt, purified vitellin.

卵母細胞를 거쳐서 卵黃에 축적되는 과정이 밝혀져 있으나 天蠶에 경우는 이와 같은 과정의 검정을 하지는 않았지만 4齡 幼蟲體液에는 없고 卵抽出物에만 나타나는 蛋白質이 幼蟲 吐絲末期부터 檢出되며(그림 6 참조), 卵黃蛋白質의 46%를 찾아하는 卵黃主蛋白質이고(그림 9 참조), 卵抽出物에 대한 抗血清에 卵과 幼蟲期에 共有하는 蛋白質을 흡착제거시켜 알에만 존재하는 抗血清을 만들었을 경우 이와 免疫學的인 反應을 하는(그림 3 참조) 결과로 미루어 同 蛋白質을 天蠶의 vitellin이라고 假定하고 이하 本文에서는 이 蛋白質을 分離 同定하여 研究를 진행하였다(그림 1).

한편 전기영동을 한후 염색을 하기전에 다른 蛋白質 band와는 달리 淡黃色을 나타내고 있는 vitellin band를 형광등 밑에서 육안으로 식별하여 해당 gel부위를 잘라내 소정의 方法에 의해 精製하였다(재료 및 방법 참조). 精製된 vitellin은 전기영동으로 확인결과, 단일 band로 나타남으로서 本 方法에 의하여 分離·精製된 vitellin은 매우 순도가 높다고 판단된다(그림 1 참조).

#### (2) Vitellin의 免疫學的 檢定

精製된 vitellin과 卵抽出物을 agarose 지지체를 이용하여 전기영동한 후 卵抽出物에 대하여 조제한 抗血清과의 抗原-抗體反應을 시킨결과, 卵抽出物을 抗原으로 하였을 경우는 적어도 4개 이상의 浸降線이 나타난다면, 분리·정제된 vitellin을 抗原으로 하였을 경우는 하나의 浸降線만을 보여 정제된 vitellin의 純도는 免疫學的으로 입증되었다(그림 2 참조).

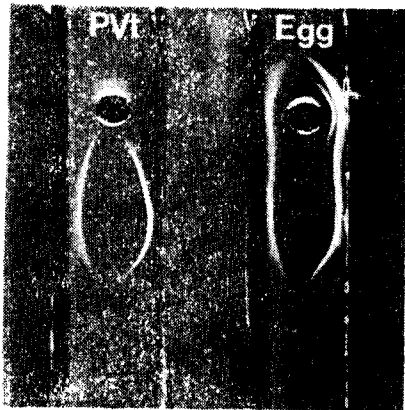


Fig. 2. Identification of purified vitellin by immunoelectrophoresis.

PVt, purified vitellin; Egg, total egg extract protein.

Troughs contained antiserum to total egg extract.

## 2) Vitellogenin의 體液內 生成時期 調査

### (1) 發育時期에 따른 體液蛋白質의 電氣泳動像

天蠶의 유충, 번데기 및 卵 등, 發育時期에 따른 體液蛋白質의 Polyacrylamide slab gel에 의한 電氣泳動像은 그림 3과 같다.

天蠶幼蟲의 體液蛋白質의 電氣泳動像은 4齡 1일부터 5齡 4일까지 뚜렷하게 性差를 보이지 않고 있으며 band數는 22~25個가 관찰되고 있다. 그러나 5령 6일경 부터는 移動度가 卵 vitellin band와 같은 部位에 雌性特

異蛋白質 band가 나타나고 있다.

家蠶의 경우 貯藏蛋白質 1이 性特異성을 보이고 있으며 그 增減은 4령초부터 體液에서 檢출되어 5령초에 증가되며 그 이후 吐絲期까지는 점차 감소된다고 하였다(Tojo 등, 1980). 天蠶의 경우는 아직 조사된 바는 없지만 免疫學的 調査결과 吐絲 3일째(S<sub>3</sub>)에 體液으로부터 檢출된 雌性特異蛋白質 band는 vitellogenin인 것으로 推定된다(그림 5).

그러나 V<sub>6</sub>~S<sub>1</sub>에 있어서 同部位 protein band의 압수간 양적인 差異가 雌特異성에 起因하는 것인지에 대하여는 不明이다. 다만 蛹化 23일째 암번데기의 體液蛋白質 band의 發現樣相과 移動이 다른 시기와 차이를 보이는데(그림 3), 이점에 대하여는 금후 成蟲化와 연계하여 더 연구되어야 할 문제점이다.

### (2) 吐絲期 및 蛹期の 免疫學的 檢定

天蠶의 vitellogenine의 生成時期를 조사하기 위하여 幼蟲 4령 3일, 5령 1일과 3일, 蛹化當日과 5일 및 19일의 體液을 전기영동하고, 天蠶 vitellin에 대하여 조제한 抗血清과의 抗原-抗體反應을 시켰다(그림 4).

幼蟲 5령 5일째까지는 vitellogenin이 檢출되지 않았으나 蛹化當日에는 명확한 浸降反應을 보였다.

한편 吐絲 1일째부터 蛹化 3일째까지의 암수별 體液과 天蠶 vitellin에 대한 抗血清과의 2重擴散反應을 시킨결과 吐絲 3일째부터 vitellogenin出現이 확인되었다(그림 5). 그러나 幼蟲 6일과 吐絲 1일째의 암컷 體液에서 vitellogenin과 동일한 위치에 나타나는 雌性特異蛋白質성분이 家蠶의 貯藏蛋白質과 같은 부류의 性질

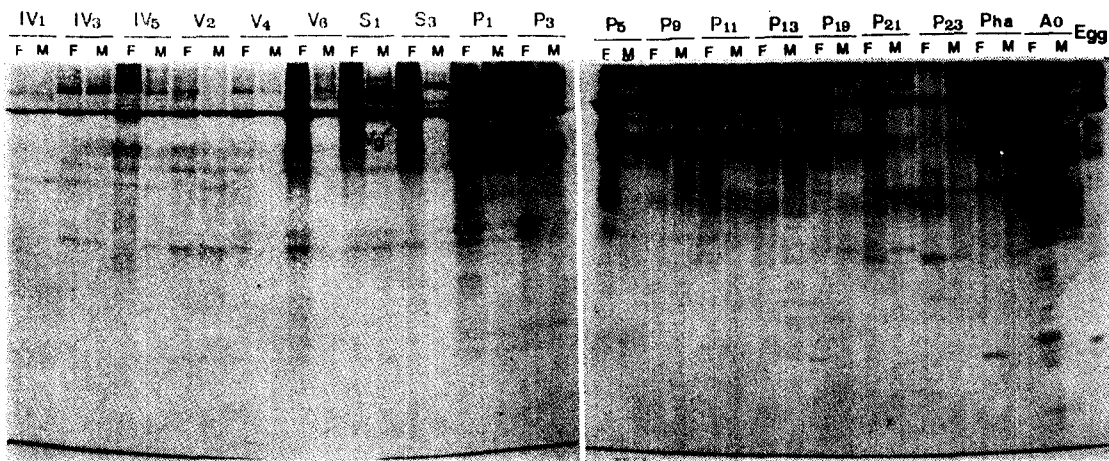


Fig. 3. Protein bands of *Antheraea yamamai* hemolymph and egg. M, fourth instar; V, fifth instar; S, spinning stage; P, pupal stage. Subscript figures indicate the corresponding day of each stage. Pha, pharate adult; Ao, newly emerged adult; F, female; M, male; Vg, Vitellogenin; Vt, vitellin.

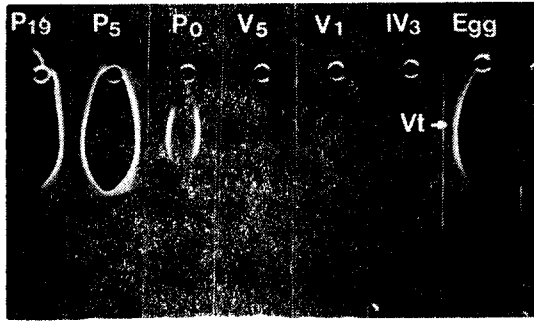


Fig. 4. Detecton of vitellin in development stage. Each well contained hemolymph proteins or egg extracts. See Fig. 3. for legends. Troughs contained specific antiserum to vitellin of *Antheraea yamamai*.

의 것일지는 현재로서는 알 수 없다. 한편 家蠶의 경우 Tojo(1980)는 蛹化當日부터 vitellogenin이 검출된다고 보고하였다.

### 3) 天蠶 vitellin과 家蠶 및 桑蠶 vitellin과의 免疫學的 特性比較

天蠶과 家蠶 및 桑蠶과의 卵蛋白質에 대한 polyacrylamide gel 전기영동상은 그림 6-A와 같다.

天蠶의 卵은 家蠶이나 桑蠶에 비하여 蛋白質 band의 數가 현저히 적고 家蠶 및 桑蠶의 vitellin과 전기영동상의 移動度가 거의 같음을 알 수 있었다. 그리고 天蠶의 卵抽出物에 대하여 조제한 抗血清을 이용한 免疫

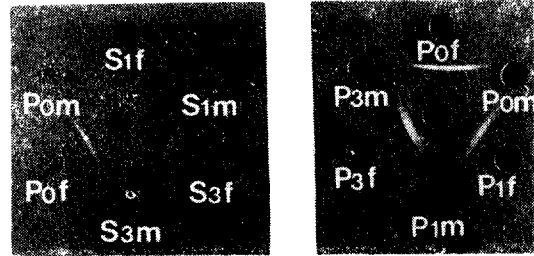


Fig. 5. Detection of vitellogenin in the hemolymph of various development stage. f, female; m, male; S<sub>1-3</sub>, the corresponding day of spinning stage; P<sub>0-3</sub>, the corresponding day of pupal stage. Center well contained specific antiserum to vitellin of *Antheraea yamamai*.

電氣泳動의 결과(그림 6-B), 家蠶과 桑蠶의 卵抽出物에 2~3종류의 침강선이 나타나는 것으로 보아 共通抗原이 존재한다는 것을 알 수 있다.

그러나 抗原-抗體吸收反應으로 얻은 天蠶의 vitellin에 대한 抗血清과의 免疫電氣泳動결과를 보면(그림 6-C), 天蠶의 vitellin은 家蠶이나 桑蠶의 vitellin과는 아무런 免疫學的 유인관계가 없었다.

### 2. 胚子發生에 따른 vitellin의 變動

家蠶에 있어서 1化性 品種은 産卵後高溫기간을 거쳐 胚子が 아직 완성되지 않은 상태에서 休眠을 하고 12月初부터 活性化되기 시작하여 그 상태를 越冬한다.

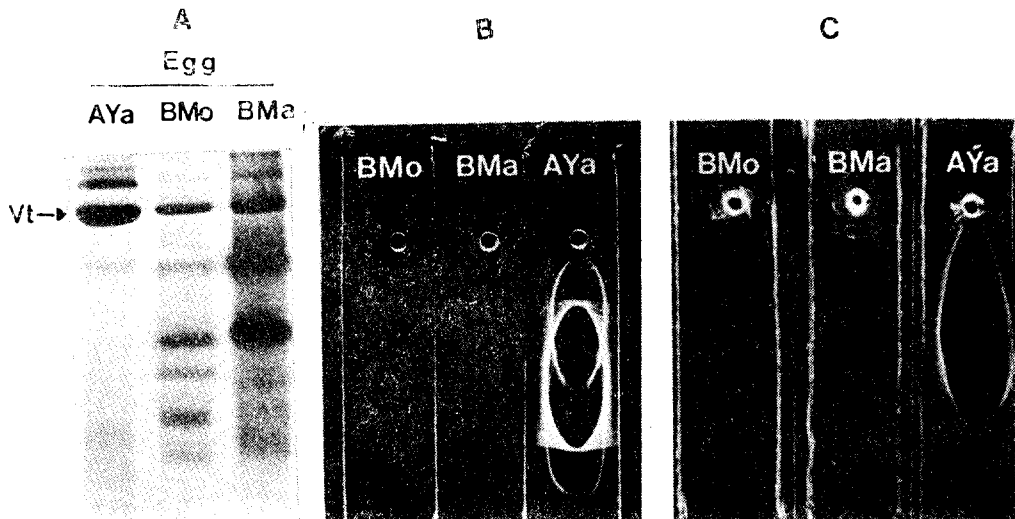


Fig. 6. Comparison of vitellins from *Antheraea yamamai* (AYa), *Bombyx mori* (BMo) and *Bombyx mandarina* (BMa) by polyacrylamide gel electrophoresis (A), and immunoelectrophoresis with antiserum to total egg extract protein (B), and with specific antiserum to vitellin of *Antheraea yamamai*.

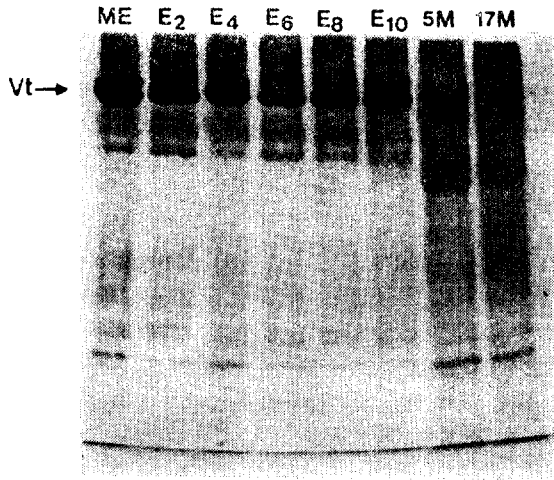


Fig. 7. Patterns of vitellin content in *Antheraea yamamai*.

Vt, vitellin; ME, matured egg; E<sub>2-10</sub>, egg age from 2 to 10 days after oviposition; 5~17M, egg age from 5 to 17 month after oviposition.

그리고 이듬해 5월중순경 完全活性卵이 된 때부터 催靑을 하면 여러 發生단계를 거쳐서 蠶體가 완성되어 孵化한다. 그러나 天蠶의 경우는 이와는 달리 産卵後 7일째면 胚子의 분이 거의 完成되고 10일째가 되면 외관상 유충의 형태를 갖추어 前幼蟲(prelarva)으로 안에서 越冬한다(Sakate, 1984).

한편 家蠶卵은 臍孔(dorsal closure)이 완전히 닫히기 전(點靑 1期前)까지 卵內容物을 볼 수 있으나 天蠶은 産卵後 胚子가 거의 완성되는 7일째에 臍孔이 폐쇄되고 7일째 후반부터 8일째에 걸쳐서 體外的 卵黃을 經口의로 섭취함으로써 알속에는 완성된 幼蟲體 外에 卵黃은 보이지 않으나 아직 中腸의 발달이 완전하지 못하여 섭취한 卵黃을 未消化의 상태로 消化管內에 보존하면서 休眠과 越冬을 한다(Sakate, 1984).

完成卵때부터 蠶體가 완성된 産卵後 10일째까지의 受精卵과 越冬中인 産卵後 5개월째의 卵, 그리고 1987年 7월에 産卵되어 休眠과 越冬期를 지나 低温處理로 孵化한 억제되어있는 産卵後 17개월째의 卵까지를 試驗材料로 vitellin의 變動을 polyacrylamide gel에 의한 電氣泳動의 方法으로 조사하였다(그림 7).

그 結果 羽化직전의 天蠶 完成卵의 vitellin量은 densitometry(Joo Koo, Sangyo Co. Mod. 1M)의 面積計算에 의하면 可溶性蛋白質中 약 46%였으나(그림 8) 卵齡이 지남에 따라 産卵後 8일째까지는 같은 상태였지만 10일 이후부터는 점차 감소되는 경향을 볼 수

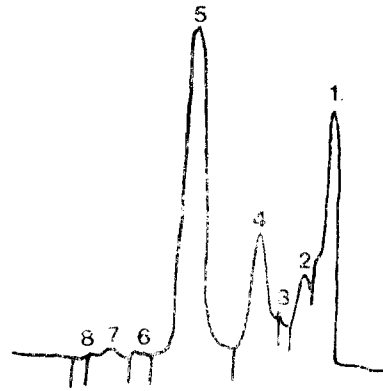


Fig. 8. Densitometric diagram of matured egg proteins.

1, 23.8%; 2, 8.1%; 3, 2.7%; 4, 15.3%; 5, 46.0%(vitellin); 6, 1.3%; 7, 2.1%; 8, 0.4%.

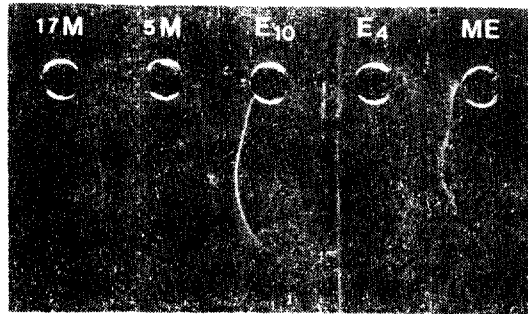


Fig. 9. Immunoelectrophoresis of vitellin in *Antheraea yamamai*.

Each well contained total egg extract of the corresponding development stage.

Troughs contained antiserum to vitellin of *Antheraea yamamai*.

See Fig. 7 for legends.

있었다.

그러나 産卵後 5개월째의 卵과 17개월째의 卵에 있어서는 vitellin이 흔적정도로 남아 있으며 이는 vitellin에 대한 抗血清과의 免疫電氣泳動에서도 입증되었다(그림 9).

卵齡 5개월의 卵蛋白質의 전기영동상은 産卵初期의 것과 뚜렷한 차이를 보이고 있으며, 특히 vitellin의 현저한 감소와 함께 産卵初期에는 볼 수 없었던 vitellin 보다는 다소 移動도가 빠른 몇개의 蛋白質 band群이 나타나고 있는데 이들이 胚子發生에 따른 vitellin의 分解産物일 가능성은 있으나 아직 確認되지는 않고 있다.

Indrasith 등(1987)에 의하면 家蠶卵黃은 vitellin이 40%, 卵特異蛋白質이 25%, 그리고 30kd蛋白質이 35%로 구성되어 있는데 胚子의 發生과정에서 vitellin은 96kd와 46kd의 peptide로, 그리고 卵特異蛋白質은 55kd와 36kd의 peptide로 部分的 分離현상이 일어났다가 孵化직전에 갑자기 없어진다고 한다. 이러한 부분적 蛋白質分解에 의한 退化현상은 폴무치(McGregor와 Loughton 1974, 1977), 초파리(Bownes와 Hames, 1977), 그리고 이질마귀(Storella 등, 1985)에서도 보고되고 있다.

한편 昆蟲에 따라서는 vitellin의 함량이나 이용시기가 다양하다. 함량으로 보면 이질마귀에서는 卵黃蛋白質의 88%가 vitellin이고(Bell, 1969) 마귀에 있어서는 90%(Engelmann, 1971)로 보고되어 있다. 또한 vitellin의 이용에 있어서 폴무치의 vitellin은 胚子發生 초기 단계부터 급속히 이용되고 있다(McGregor와 Loughton, 1974). 그러나 家蠶에 있어서는 vitellin의 함량이나 이용양상이 특이하다. 즉, vitellogenin은 蛹化직후 可溶性蛋白質의 5%밖에 안되지만, 蛹齡이 진전됨과 동시에 점차 증가하여 羽化직전에는 약 40%가 된다(Ogawa와 Tojo, 1981). 그리고 産卵직후의 알에는 卵黃物質의 50%가 蛋白質이며 이중 vitellin은 可溶性蛋白質의 40%가 되나 産卵後 6~7일까지 胚子發生에 따라 그量は 크게 줄어들지 않지만 vitellin은 7일 이후부터 급격히 줄어든다. 그러므로 vitellin은 胚子發生 초기에는 거의 이용되지 않지만 후기에는 눈에 띄게 소모된다고 한다. 이에 반해 卵特異蛋白質은 産卵後 胚子發生 초기부터 꾸준히 이용되므로 胚子發生에 중요한 역할을 하지만 vitellin은 産卵後 7일째부터 소모되는 것으로 보아 卵特異蛋白質과는 별개의 이용양상을 나타내고 있으며 특히 胚子發生에 필수적이 아니라고 하였다(Irie와 Yamashita, 1980, 1983). 실제로 Yamashita와 Irie(1980)는 5령초의 卵巢를 수누에에 移植하여 발육시킨뒤 羽化직전에 解剖하여 vitellin이 없는 完成卵을 꺼내어 單位發生시켜서 即時浸酸을 한 뒤 孵化된 누에를 사육한 결과 암나방에서 産卵된 正常卵에 비해 손색없이 잘 發育하여 營繭하게 함으로써 이를 증명하였다.

한편, 근래 Furusawa와 Indrasith(1987)는 産卵 48시간제의 家蠶卵을 5°C와 1°C에 人工越冬시켜(140일간) 休眠이 끝났을때 胚子發生을 유도하여 SDS-PAGE의 方法으로 分子量 55kd의 卵特異蛋白質 유래의 polypeptide를 얻고 또 分子量 46kd의 vitellin 유래의 polypeptide를 얻어서 이들 증감을 추구하고 이들 polypeptide가 休眠상태와 밀접한 관련이 있을 것이라고 보고

하고 있다.

그러나 天蠶의 vitellin이 卵內 前幼蟲의 營養源으로 쓰이는지 또는 卵의 休眠과 관련되어 있는지 등 天蠶 vitellin의 機能的 解明에 관해서는 앞으로의 과제로 남긴다.

## 摘 要

天蠶의 알에서 卵黃 主蛋白質인 vitellin을 分離·精製하고 家蠶 및 桑蠶의 vitellin과 天蠶 nitellin과의 免疫學的 特性을 比較하였으며 天蠶의 胚子發生에 따른 卵內 vitellin의 變動을 調査하였다.

1. 天蠶의 體液 vitellogenin은 幼蟲期の 吐絲末期부터 檢出되었다.

2. 天蠶의 vitellin은 家蠶 및 桑蠶의 vitellin과 電氣泳動像의 移動도는 같았으나 免疫學的인 特性에 있어서는 非同質性이었다.

3. 天蠶 vitellin의 含量은 전체 可溶性 卵蛋白質의 46.0%였으며, 胚子發生에 따른 vitellin의 變動은 産卵後 8일까지는 같은 水準이었으나, 10日 이후부터는 감소되는 경향을 보이다가 5개월된 卵과 17개월된 卵에서는 상당히 微量만이 檢出되었다.

## 引 用 文 獻

1. 鮎泮啓夫·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 29:197-202.
2. Bell, W.J. (1969) Dual role of juvenile hormone in the control of yolk formation in *Periplaneta americana*. J. Insect Physiol. 15:1279-1290.
3. Bowness, M. and Hames, B.D. (1977) Accumulation and degradation of three major yolk proteins in *Drosophyla melanogaster*. J. Exp. Zool. 200:149-156.
4. Brookes, V.J. (1969) The induction of yolk protein synthesis in the fat body of insect, *Leucophaea mederae*, by an analog of the juvenile hormone. Develop. Biol. 20:459-471.
5. Buhlman, G. (1976) Haemolymph vitellogenin, juvenile hormone, and Oocyte growth in the adult cockroach *Nauphoeta cinerea* during first pre-oviposition period. J. Insect. Physiol. 22: 1101-1110.
6. Chen, T.T., Strahlendorf, P.W. and Wyatt,

- G.R. (1978) Vitellin and vitellogenin from Locusts (*Locusta migratoria*). Properties and post-translational modification in the fat body. *J. Biol. Chem.* 253:5325-5331.
7. 芽野春雄. 富野士度(1984) 血液タンパク質とその役割, 家蠶生化学(伊藤智夫編著). 裳華房. 92-129.
  8. Chino, H., Murakami, S. and Harashima, K. (1969) Diglyceride-carrying lipoprotein in insect hemolymph. Purification and properties. *Biochim. Biophys. Acta* 176:1-26.
  9. Chino, H. Yamagata, M. and Takahashi, K. (1976) Isolation and characterization of insect vitellogenin, its identity with hemolymph lipoprotein II. *Biochim. Biophys. Acta* 441:349-353.
  10. Chinzei, Y., Chino, H. and Wyatt, G.R. (1981) Purification and properties of vitellogenin and vitellin from *Locusta migratoria*. *Insect Biochem.* 11:1-7.
  11. Davis, B.J. (1964) Disc electrophoresis-II. Method and application to human serum proteins. In gel electrophoresis, ed. by J.F. Friedrich, *Ann New York. Acad. Sci.* 121:404.
  12. Dejmala, R.K. and Brookes, V.J. (1972) Chemical and physical characteristics of a yolk protein from the ovaries of *Leucophaea mederae*. *J. Biol. Chem.* 247(3):869-874.
  13. 土井良宏. 1968. 變態に伴うカイコ體液蛋白の變動, 九大農學藝雜 23:205-214.
  14. Doira, H. and Kawaguchi, Y. (1972) Changes in haemolymph and egg protein by the castration and implantation of the ovary in *Bombyx mori*. *J. Fac. Agric. Kyushu Univ.* 17:117-125.
  15. 江口正治・政山亭・西村允子(1966) 家蠶の變態に伴う組織蛋白の電気泳動像の變化. *日蠶雜* 35:435-443.
  16. Engelmann, F. (1969) Female specific protein: Biosynthesis controlled by corpus allatum in *Leucophaea mederae*. *Science* 165:407-409.
  17. Engelmann, F. (1971) Juvenile hormon-controlled synthesis of female-specific protein in the cockroach *Leucophaea mederae*. *Arch. Biochem. Biophys.* 145:439-447.
  18. Engelmann, F. (1974) Polyribosomal and microsomal profiles of fat body homogenates from reproductively active and inactive females of the cockroach *Leucophaea mederae*. *Insect. Biochem.* 4:345-354.
  19. Engelmann, F. (1979) Insect vitellogenin. Identification, biosynthesis, and role in vitellogenesis. *Adv. Insect Physiol.* 14:49-108.
  20. Engelmann, F., and Ladduwahetty, M. (1974) The female specific protein essential for egg maturation in insects. *Zool. Jahrb. Physiol.* 78:289-300.
  21. Fallon, A.M., Hagedorn, H.H., Wyatt, G.R. and Laufer, H. (1974) Activation of vitellogenin synthesis in the mosquito *Aedes aegypti* by ecdysone. *J. Insect Physiol.* 20:1815-1823.
  22. Furusawa, T. and Indrasith, L.S. (1978) Quantitative and qualitative changes of polypeptides of egg-specific protein and vitellin depending on the diapause state of *Bombyx* eggs exposed to lower temperatures. *日蠶雜* 56(6):167-173.
  23. Hagedorn, H.H. and Kunkel, J.G. (1979) Vitellogenin and vitellin in insects. *Annu. Rev. Entomol.* 24:475-505.
  24. Huybrechts, R. and De Loof, A. (1977) Induction of vitellogenin synthesis in male *Sarcophaga bullata* by ecdysterone. *J. Insect Physiol.* 23:1359-1362.
  25. 井口民夫, 中井正憲 (1978) 家蠶のピテロゾエンンに関する研究 1. 同定とアミノ酸組成, *蠶試報* 27:579-593.
  26. 稻神馨. 1954. 家蠶體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. *日蠶雜*. 23:304-307.
  27. Indrasith, L.S., Furusawa, T., Shikata, M. and Yamashita, O. (1987) Limited degradation of vitellin and egg-specific protein in *Bombyx* eggs during embryogenesis. *Insect Biochem.* 17:539-545.
  28. Irie, K. and Yamashita, O. (1980) Changes in vitellin and other yolk proteins during embryonic development of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* 26:811-817.
  29. Irie, K. and Yamashita, O. (1983) Egg-specific protein in the silkworm, *Bombyx mori*: Purification, Properties, localization and titre changes during oogenesis and embryogenesis. *Insect Biochem.* 13:71-80.



30. Izumi, S., Tojo, S. and Tomino, S. (1980a) Translation of fat body mRNA from the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochem.* 10:429-434.
31. Izumi, S., Tonino, S. and Chino, H. (1980b) Purification and molecular properties of vitellin from the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochem.* 10:199-208.
32. Koeppe, J. and Offengand, J. (1975) Juvenile hormone-induced biosynthesis of vitellogenin in *Leucophaea mederae*. *Arch. Biochem. Biophys.* 173:100-113.
33. De Loof, A. and De Wilde, J. (1970) Hormonal control of synthesis of vitellogenic female protein in the colorado beetle, *Leptinotarea decemlineata*. *J. Insect Phys.* 16:1455-1466.
34. McGregor, D.A. and Loughton, B.G. (1974) Yolk protein degradation during embryogenesis of the african migratory locust. *Can. Zool.* 52: 907-917.
35. McGregor, D.A. and Loughton, B.G. (1977) Amino acid composition, degradation and utilization of locust vitellogenin during embryogenesis. *Wilhelm Roux's Arch.* 181:113-122.
36. Mundall, E.C., Tobe, S.S. and Stay, B. (1979) Induction of vitellogenin and growth of implanted oocytes in male cockroaches. *Nature* 282:97-98.
37. Munn, E.A., Feinstein, A.A. and Greville, G.D. (1971) The isolation and properties of protein calliphorin. *Biochem. J.* 124:367-374.
38. Munn, E.A. and Greville, G.D. (1969) The soluble proteins of developing *Calliphora erithrocephala* particularly calliphorin, and similar proteins in other insects. *J. Insect Physiol.* 15: 1935-1950.
39. Nakasone, S. and Kobayashi, M. (1965) Acrylamide gel electrophoresis of blood protein during the molting and metamorphosis in the silkworm, *Bombyx mori* L. *J. Seric. Sci. Japan* 34:257-262.
40. Ogawa, K. and Tojo, S. (1981) Quantitative changes of storage proteins and vitellogenin during the pupal-adult development in the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Appl. Entomol. Zool.* 16:288-296.
41. Ono, S., Nagayama, H. and Shimura, K. (1975) The occurrence and synthesis of female and egg-specific proteins in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochem.* 5:313-329.
42. Ouchterlong, Ö. (1968) Diffusion-in-gel Methods for Immunological Analysis. Ann Arbor Science Pub. Inc. Michigan.
43. Pan, M.L. (1971) The synthesis of vitellogenin in the *Cecropia* silkworm. *J. Insect Physiol.* 17:677-689.
44. Pan, M.L., Bell, W.J. and Telfer, W.H. (1969) Vitellogenic blood protein synthesis by insect fat body. *Science.* 165:393-394.
45. Pan, M.L. and Wyatt, G.R. (1976) Control of vitellogenin synthesis in the monarch butterfly by juvenile hormone. *Develop. Biol.* 54:127-134.
46. Price, G.M. (1973) Protein and nucleic acid metabolism in insect fat body. *Biol. Rev.* 48: 333-375.
47. Sakate, S. (1984) 天蠶卵の冬眠. 日本蠶絲試験場集報 123:31-46.
48. Shigematsu, H. (1958) Synthesis of blood protein by fat body in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Nature* 182:880-882.
49. 重松孟(1960) 家蠶脂肪組織におけるタンパク質代謝. 蠶試報 16:141-170.
50. Storella, J.R., Wojchowski, D.M. and Kunkel, J.G. (1985) Structure and embryonic degradation of two native vitellins in the cockroach, *Periplaneta americana*. *Insect. Biochem.* 15:259-275.
51. Telfer, W.H. (1954) Immunological studies of insect metamorphosis. II. The role of sex-limited blood protein in egg formation by the *Cecropia* silkworm. *J. Gen. Physiol.* 37:539-588.
52. Telfer, W.H. and Williams, C.M. (1953) Immunological studies of insect metamorphosis. I. Quantitative and qualitative changes in the blood proteins of the *Cecropia* silkworm. *J. Gen. Physiol.* 36:389-413.
53. Thomson, J.A. (1975) Major patterns of gene activity during development in holometabolous insects. *Adv. Insect Physiol.* 11:321-398.
54. Thomson, J.A., Radok, K.R., Shaw, D.C., Whitten, M.J., Foster, G.G. and Birt, L.M.

- (1976) Genetics of lucilin, a storage protein from the sheep blowfly, *Locusta migratoria* (Calliphoridae). *Biochem. Genet.* 14:145-160.
55. Tojo, S., Nagata, M. and Kobayashi, M. (1980) Storage proteins in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochem.* 10:289-303.
56. Wyatt, G.R and Pan, M.L. (1978) Insect plasma proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 47:779-817.
57. Yamashita, O. and Irie, K. (1980) Larval hatching from vitellogenin-deficient eggs developed in male hosts of the silkworm. *Nature* 283:385-386.