

Paper Chromatography による白蠶病蚕血液及び緑蠶病蚕血液の遊離アミノ酸について*

古 平 福 紀**

Yoshinori KODAIRA : The Detection of the Free Amino Acids in the Blood of both the White and Green Muscardine Silkworms by Means of Paper Chromatography

(1957年 9 月20日受理)

Paper chromatography による家蚕幼虫の血液内遊離アミノ酸の検出については Andréé 等は 6 種類を認め、福田は16種類を分離し、その中13種類を確認し、吉武等は18種を分離し、その中14種類を確認している。又石森等は26種類を分離し、その中 21 種類を確認している。更に福田等は Bioassy により 18種類のアミノ酸を確認している。一方、病蚕の血液内の遊離アミノ酸の検出については吉武等及び石森等の膿病蚕血液についての研究があり、吉武等は健蚕血液と膿病蚕血液との間に質的にも又量的にも殆んど差異のない事を認めているが、石森等は両者の間に質的には差異はないが、量的には顕著な差異があることを報告している。

筆者は上記諸氏の方法にならい、健蚕血液内の遊離アミノ酸を Paper chromatography により検出すると共に硬化病蚕の病態生理研究の一部として白蠶病蚕及び緑蠶病蚕の血液内の遊離アミノ酸の消長を健蚕のものと比較検討した。

材料及び方法

(1) 材料

白蠶病蚕の場合は 5 齢起蚕時において、又緑蠶病蚕の場合は 4 齢起蚕時においてそれぞれ硬化病菌を接種し、3 日間多湿育の後普通に飼育し、5 齢 5 日目又は 6 日目に生じた白蠶病蚕及び緑蠶病蚕を採取し、斃死後約 20 時間を経過して稍硬化しはじめた病蚕の脚部から血液をとり、その 2 cc に倍量の 96% アルコールを加えて生じた沈澱を遠心分離し、上清を 1 cc に減圧濃縮して用いた。な

お健蚕の場合にも 5 齢 5 日目乃至 6 日目の蚕児をとり同様の方法により材料を調製した。なお蚕児は何れも支 113 号を用いた。

(2) Paper chromatography

濾紙は東洋濾紙 No. 50 を用い、一次元の場合は内径約 6 cm、高さ約 40 cm のガラス円筒内で水飽和の n-ブタノール及び 0.1 % のアンモニア 10% を含むフェノールを用い、二次元の場合には内径 30 cm、高さ 55 cm のガラス鐘内でフェノールと n-ブタノール及びフェノールとルチジンコリジンの展開液を用い、20°~25°C において上昇法で行った。なお展開後の呈色法は常法に従った。

試料はミクロピペットにより、一次元の場合は 0.01 cc、0.03 cc、0.05 cc 及び 0.08 cc 宛を、二次元の場合は、0.06 cc、0.08 cc を添加した。但し白蠶病蚕及び緑蠶病蚕の場合には更に 0.1 cc 及び 0.14 cc をも添加した。

実験結果及び考察

試料の添加量を種々に変えて反覆実験した結果は別表に示す如くである。先づ、アミノ酸の種類に於ては、健蚕では 19 種類を分離し、内 18 種類を認めたが、白蠶病蚕では本実験の範囲内では健蚕にくらべ相当にアミノ酸の数が減り 11 種類(内不確実 1 種類)を認めたのみであつた。これに反し緑蠶病蚕においては健蚕に認められたアミノ酸の中 Tryptophan を認める事が出来なかつたが、その他のアミノ酸はいづれも健蚕と同様に認める事が出来た。

次に健蚕、白蠶病蚕及び緑蠶病蚕の 3 者間における各アミノ酸の比較濃度を見ると、緑蠶病蚕では Cystine, Glycine 及び Proline は健蚕と同程度の濃度であつたが、その他のアミノ酸はいづれも健蚕の場合よりも減少していた。白蠶病蚕においては、緑蠶病蚕よりも更に著

* 研究の概要は 1954 年 11 月日本蚕糸学会中部支部研究発表会にて報告

** 信州大学繊維学部 蚕体病理学研究室

しく減少しているアミノ酸が多かつたが、Aspartic acid のみは逆に緑殭病蚕及び健蚕よりもその濃度が増加している事が確認された。

以上の様に、硬化病蚕においてアミノ酸の種類及び健蚕との比較濃度が減少しているのは、硬化病菌の菌糸が蚕の血液内で发育繁殖のためにアミノ酸を摂取するためであろうと考えられる。そして白殭病蚕の場合の方が緑殭病蚕の場合よりその程度が著しいのは、緑殭病菌の发育は白殭病菌の发育より稍おそいためであると考えられる。又白殭病蚕の血液内において Aspartic acid が健蚕の場合より増加しているのは白殭病菌が血液内の蛋白質を分解して生成したためであろうと思われる。

健蚕及び硬化病蚕血液内遊離アミノ酸の種類及び濃度

アミノ酸	健蚕	白殭病蚕	緑殭病蚕
Alanine	卅	-	+
Arginine	卅	-	+
Asparagine	卅	-	+
Aspartic acid	++	卅	+
Cystine	++	+	++
Glutamine	(+)	-	(+)
Glutamic acid	卅	+	++
Glycine	++	+	++
Histidine	卅	++	++
Leucine	++	-	+
Lysine	卅	+	++
Methionine	卅	+	++
Phenyl alanine	卅	+	+
Proline	++	+	++
Serine	卅	(+)	++
Threonine	卅	-	+
Tyrosine	++	+	+
Tryptophan	++	-	-
Valine	++	-	+

備考 表中の記号はアミノ酸濃度の大小を示す。括弧内のものは不確実のものを示す。

摘 要

Paper chromatography により硬化しはじめた白殭病蚕及び緑殭病蚕血液内の遊離アミノ酸の検出を行い、健蚕血液内の遊離アミノ酸と比較検討し、次の結果を得た。

(1) アミノ酸の種類は健蚕において19種類(内不確実1種類)を、白殭病蚕においては11種類(内不確実1種類)を、又緑殭病蚕においては18種類(内不確実1種類)を検出した。

(2) 硬化病蚕血液内のアミノ酸と健蚕血液内のアミノ酸との比較濃度は、白殭病蚕及び緑殭病蚕においては健蚕よりも大部分のアミノ酸が減少している事を認めた。殊に白殭病蚕の場合においては緑殭病蚕の場合よりその程度が著しかつた。又白殭病蚕に於ては Aspartic acid が健蚕の場合より増加している事が認められた。

終りに当り、御校閲をいただいた松尾卓見先生及び終始本実験に熱心に御協力いただいた塩川美恵子氏に厚く感謝の意を表す。

引用文献

- (1) M. D. ANDRÉE, M. B. RÉNE-GUY: Revue du Ver à Soie, 51 (1949)
- (2) 福田紀文: 日蚕誌, 19 (4), 372—374 (1950)
- (3) ———・桐村二郎: 日蚕誌, 23 (3), 194 (1954)
- (4) 石森直人・武藤聡雄: 日蚕誌, 20 (2), 128—131 (1951)
- (5) 吉武成美・有賀久雄: 日蚕誌, 19 (6), 534—535 (1950)

Summary

The author detected, by the paper chromatography, free amino acids existing in the blood of white and green muscardine silkworms that had begun to harden about 20 hours after they died of the diseases and then compared these acids with those of the normal silkworm. The results obtained are as follows:

(1) The author detected 19 kinds of amino acids, one of which was uncertain in the normal silkworm. While 18 kinds, one of which was uncertain, in white muscardine silkworm and 11 kinds, one of which was uncertain, in green muscardine silkworm.

(2) Concerning the comparative quantity of the amino acids, the author acknowledged that the amount of most amino acids in the white muscardine and green muscardine silkworms are generally less than in the normal silkworm, especially white muscardine silkworm showing much less quantity than green muscardine silkworm, and also acknowledged that the amount of aspartic acid in the white muscardine silkworm are more plentiful than in the normal one.