

カイコ卵の休眠情報の伝達系に
関する研究

1993年

岩手大学大学院
農学研究科
生物環境科学専攻
(岩手大学)

楊 峻

①

カイコ卵の休眠情報の伝達系に
関する研究

1993年3月

岩手大学大学院
連合農学研究科
生物環境科学専攻
(岩手大学)

楊 峻

目 次

序 論	1
第 1 章 カイコにおける蛹脳内遊離アミノ酸関連物質の休眠性による差異	6
材料と方法	7
結果	
1. 蛹脳における遊離アミノ酸の同定	8
2. 蛹脳および孵化幼虫における特異的アミノ酸関連物質の変動	10
考察	15
摘要	17
第 2 章 カイコの組織器官における特異的アミノ酸関連物質の休眠性による差異	18
材料と方法	20
結果	
1. 蛹の脂肪体における特異的アミノ酸関連物質の含量	21
2. 幼虫と蛹の血液における特異的アミノ酸関連物質の含量	24
3. 昆虫とラットの組織器官におけるアミノ酸	

ブール	-----	3 3
考察	-----	3 9
摘要	-----	4 3
第 3 章	カイコの特異的アミノ酸関連物質の精製	4 5
材料と方法	-----	4 5
結果		
1.	薄層クロマトグラフィーによる分離	4 8
2.	逆相液体クロマトグラフィーによる単離	5 1
考察	-----	5 5
摘要	-----	5 8
第 4 章	カイコの特異的アミノ酸関連物質の構造と	
機能	-----	5 9
材料と方法	-----	5 9
結果		
1.	シーケンス分析	6 1
2.	X-A A の生理活性	6 1
考察	-----	6 8
摘要	-----	7 1
総合考察	-----	7 2
参考文献	-----	7 6

序 論

昆虫の休眠とはなにか？多数の昆虫は不適切な自然環境を乗り切る手段として、自然環境が回復するまで、発育を長期的に停止する能力を持つ。このような昆虫では、日長変化、そして温度変化などから、来るべき環境変化を察知し、それらの情報を内分泌系の情報へ変換して最終的に発育を停止する。この自律的な発育停止の現象を休眠という。休眠中の昆虫は発育に適した条件におかれても、低い代謝を維持し、発育を停止し続ける。一旦発育を停止した昆虫は、低温などの刺激に長期間さらすことによって休眠から覚醒し、再び発育を始める。昆虫の中には決して休眠しないものもあるが、休眠する昆虫では、胚（卵）、前幼虫、幼虫、蛹あるいは成虫のいずれかの時期に休眠する。昆虫の種によって休眠する発育段階が定まっている。

カイコは典型的な卵休眠を行なう。1化性のカイコは1世代を経過し、成虫は必ず休眠卵を産み、多化性のカイコは非休眠卵を産み、年間に数世代を繰り返す。これに対し、2化性のカイコは環境の支配を受けやすく、成

虫の産む卵の休眠性は、すでにその成虫の卵期の催青条件によって左右される。すなわち、2化性のカイコを卵期に15℃、暗条件で催青させ、その卵が孵化して幼虫、蛹を経て成虫になると、産まれた卵はすべて非休眠卵となる。逆に27℃、明条件で催青させると、産まれた卵はすべて休眠卵となる (Kogure, 1933)。カイコの胚発生の際に与えられた温度と光条件が脳に記憶され、その記憶は、蛹になったとき、食道下神経節 (SG) の休眠ホルモン (DH) 分泌細胞から、休眠ホルモンの体液中への分泌を促進するか、逆に分泌を抑えるかという正反対の作用となって発現する。蛹脳が食道下神経節に対して抑制的に働くときにはすべて非休眠卵となり、逆に分泌を促進するときにはすべて休眠卵となる (Fukuda, 1951, 1952a, 1952b; Hasegawa, 1952)。この雌蛹脳における食道下神経節に対する制御部は、脳の前大脳腹面の前側部皮質に存在していると考えられている (Matsutani and Sonobe, 1987)。

カイコにおける *in vitro* の実験では、休眠卵産生蛹の食道下神経節からの休眠ホルモンの分泌が抑制性神経伝達物質の γ -アミノ酪酸によって抑制され、逆にその

ブロッカーであるピクロトキシンは，非休眠卵産生蛹の食道下神経節からの休眠ホルモンの分泌を促進させる（Hasegawa and Shimizu, 1990）。さらに，休眠ホルモンの抽出に成功（Hasegawa, 1975）後，構造解析は進みその分子量が約 2,000 と 3,300 のものが発見されている（Yamashita and Hasegawa, 1985）。最近，休眠ホルモンの構造が決定され，24 個アミノ酸残基のペプチドであり，そのアミノ酸配列までも明らかにされた（Imai *et al.*, 1991）。

前述したように，カイコの卵休眠に関連した蛹脳－食道下神経節－休眠ホルモン－卵休眠開始の系は一応明らかにされている。また 2 化性系統にみられる外因性休眠の場合のように，休眠が発生するか否かは，休眠するステージの前段階で光や温度などの環境条件によって決定される。しかし，母親の卵期（胚子発育期）に受け取った環境情報をいかに蛹期まで休眠情報として伝達し保持しているかの経路，すなわち，卵期の休眠情報の受容と変換－幼虫期の休眠情報の保持・伝達－蛹期脳の休眠情報の発現に関連する系についてはほとんど不明である。

本論文では，このカイコ卵の特に休眠情報の現象に着

目し、その受容から発現までの伝達系を物質レベルから明らかにすることを目的とした。その結果、蛹脳や孵化幼虫のアミノ酸プールを解析したところ、非休眠卵産生蛹脳と休眠卵産生蛹脳で大きく含量が異なるある未同定のアミノ酸関連物質を発見した。また、母親の卵期に高温全明処理（休眠卵産生蛹になる）した場合と低温全暗処理（非休眠卵産生蛹になる）した場合を比較しても、この物質の濃度差はすでに孵化幼虫で認められる。このことは、未同定のこの物質が休眠情報の伝達系に深く関与することを示唆している。さらに、この物質の構造解析を進め、バイオアッセイを行った。

本論文では、第1～3章において特異的アミノ酸関連物質の存在と各組織器官における分布ならびにその分離精製法を検討し、各組織器官における分布を調査しながらその抽出・精製法を検討した。第4章でその構造と機能を明らかにすることを試みている。また総合考察では、カイコにおける特異的アミノ酸関連物質の役割を休眠情報の保持・伝達系の点から解説した。

本研究を遂行する上で終始指導を賜った岩手大学農学部教授栗原守久博士と助教授鈴木幸一博士，また助言と校閲を賜った弘前大学農学部教授正木進三博士と教授安藤喜一博士，山形大学農学部教授小林四郎博士に心から拝謝する。

第1章 カイコにおける蛹脳内と孵化幼虫の遊離アミノ
酸関連物質の休眠性による差異

カイコの卵休眠は、温度や日長のような環境要因によって誘導される外因性のものと、遺伝的に決定されていて環境要因には全く影響されない内因性のものに分けられる。いずれのタイプであっても、蛹期の食道下神経節から分泌される休眠ホルモンが卵巣に作用し産下卵の休眠を誘起する (Hasegawa, 1957; Yamashita and Hasegawa, 1985)。

2化性系統にみられる外因性休眠の場合は、母親の卵期(胚子発育期)に受け取った環境要因が主要な誘導条件となっている (Kogure, 1933)。しかし、卵期の休眠情報の受容—幼虫期の休眠情報の保持・伝達—蛹期脳の休眠情報の発現に関連する系についての研究は、脳が食道下神経節からの休眠ホルモンの分泌を支配しているという報告以後ほとんど進展していない (Fukuda, 1951; Tsuchida and Yoshitake, 1983)。最近、蛹脳の外科的ミクロ手術によって特定部位が食道下神経節からの休眠ホルモン分泌を調節していることが報告されている (

Matsutani and Sonobe, 1987)。そこで本章では、カイコの休眠情報の受容から保持や発現までの過程を明らかにする目的で、蛹脳内と孵化幼虫の遊離アミノ酸プールについて解析し、未同定のアミノ酸関連物質が休眠、非休眠によって明らかに異なっていることを見出した。

材料と方法

2化性系統の大造を用い、卵期の催青条件として高温(27℃)全明と低温(15℃)全暗の二つを設定した。孵化直後の蠶蚕の一部(1実験区50~200匹)を液体窒素で凍結後、頭部と胸腹部に切断し、それぞれをカイコ卵の遊離アミノ酸プールの試料作製法に従って調整した(Suzuki *et al.*, 1984)。すなわち、冷3%スルホサリチル酸400 μ lで磨砕後、10,000gで15分間遠心処理し、さらにこの沈殿物を同スルホサリチル酸1mlで再度除タンパクのため遠心処理した。合わせた上清を-80℃で保存した。分析する直前、保存上清を解凍後あらかじめ10,000rpmで5分間遠心した。一方、蠶蚕の一部は25℃短日(12時間明-12時間暗)条件で桑葉育した。本実験のそれぞれの条件で催青、飼育して得られた蛹から羽化した成

虫は確実に休眠、非休眠卵を分けて産んだ。化蛹後 24 時間以内に雌雄の蛹を氷冷麻醉し、実体顕微鏡下で脳を摘出し、冷生理食塩水中で直ちに視葉や付属神経系を除去した。1 実験区 30 個の脳を 400 μ l の 3% スルホサリチル酸で磨碎し、上記の通りに遠心処理し保存した。遊離アミノ酸の分析は高速アミノ酸アナライザー (MLC-203, アト-株式会社) で行った。

結 果

1. 蛹脳における遊離アミノ酸の同定

初めに化蛹直後の休眠卵産生蛹の脳における遊離アミノ酸を調査した。Fig. 1 に示したように、溶出順にホスホセリン, タウリン, アスパラギン酸, スレオニン, セリン, アスパラギン, グルタミン酸, グルタミン, プロリン, グリシン, アラニン, α -アミノ酪酸, バリン, メチオニン, シスタチオニン, イソロイシン, ロイシン, チロシン, γ -アミノ酪酸, ヒスチジン, リジン, アルギニンが同定された。また孵化幼虫で同定したフェニルアラニン, 1-メチルヒスチジン, オルニチンなどは蛹脳では痕跡程度であった。

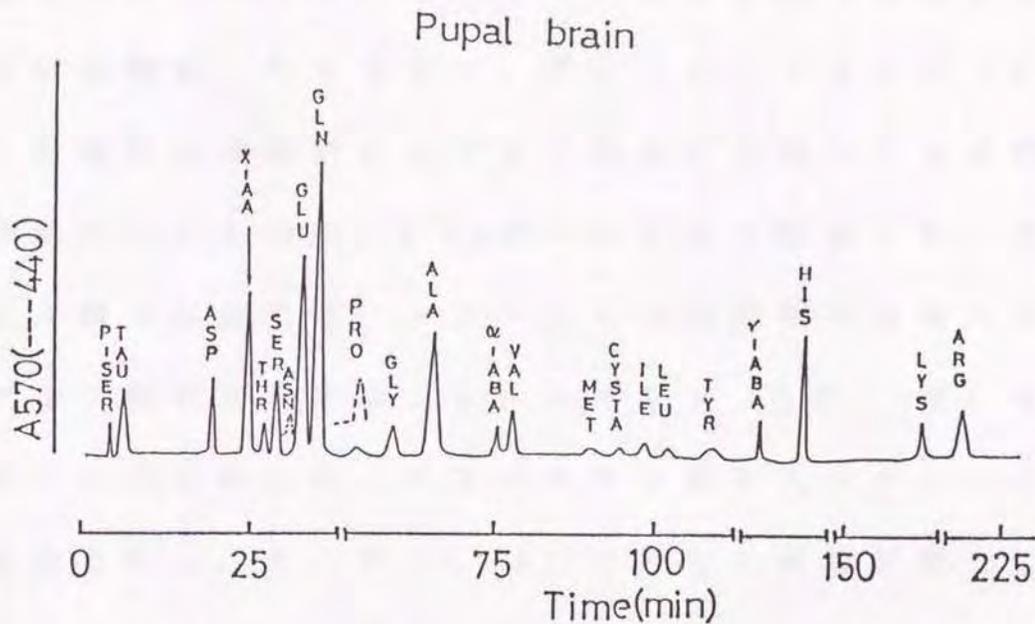


Fig.1. Chromatogram of free amino acids demonstrated by high speed amino acid analyzer in the brains of female pupae.

The pupae experienced the regimen of high temperature (27°C) and continuous light throughout the period of embryonic development. P-SER, phosphoserine; TAU, taurine; ASP, aspartic acid; X-AA, unknown amino acid; THR, threonine; SER, serine; ASN, asparagine; GLU, glutamic acid; GLN, glutamine; PRO, proline; GLY, glycine; ALA, alanine; α -ABA, α -aminobutyric acid; VAL, valine; MET, methionine; CYSTA, cystathionine; ILE, isoleucine; LEU, leucine; TYR, tyrosine; γ -ABA, γ -aminobutyric acid; HIS, histidine; LYS, lysine; ARG, arginine.

一方，アスパラギン酸とスレオニンの中に未同定ピーク（X-AA）が溶出された。このピークは脳内伝達性アミノ酸であるグルタミン酸，アスパラギン酸（両者とも興奮性伝達物質）やタウリン，グリシン，アラニン（いずれも抑制性伝達物質）のアミノ酸量に比較しても量的に十分認められたので，X-AAについて若干検討した。通常アミノ酸分析計では，タンパク質分解産物である非天然型アミノ酸のメチオニンスルホキシド（D型，L型）やメチオニンスルホンは，アスパラギン酸とスレオニンの間に溶出される。そこで，X-AAについても蝨脳試料と二つの標準アミノ酸の同時注入で検討したところ，いずれのピークとも一致しなかった（Fig. 2）。それゆえ，X-AAは天然型アミノ酸関連物質である可能性がある。

2. 蝨脳および孵化幼虫における特異的アミノ酸関連物質の変動

休眠卵産生蝨脳で同定された22種類のアミノ酸と未同定のX-AAについて，非休眠卵産生蝨脳との間で量的比較を行った。その結果，Table 1に示したように，アミノ酸に関しては両者で差異が認められなかった。しかし，スレオニン当量で示したX-AAのみが休眠卵産生蝨脳で

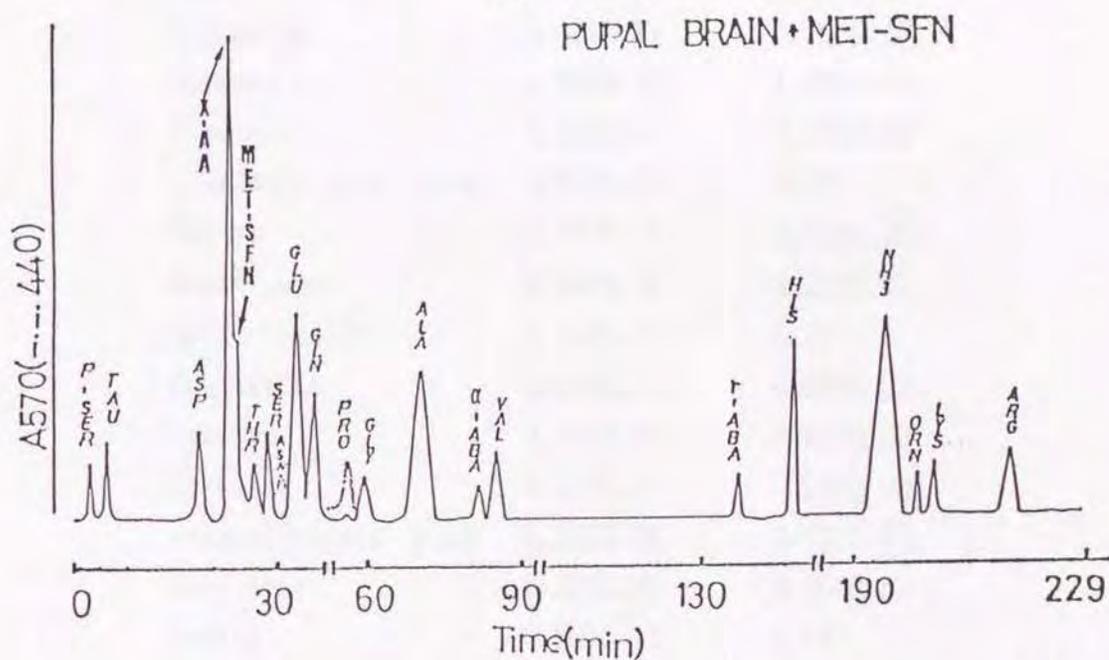
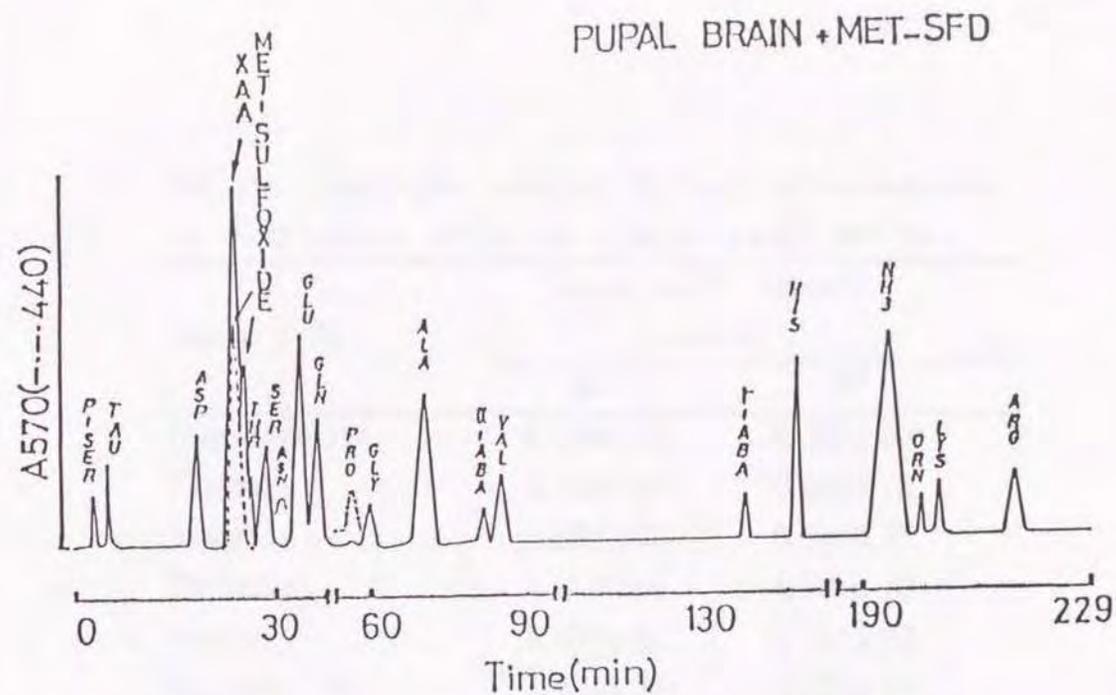


Fig. 2. Comparison between amino acid pool in the pupal brains and methionine sulfoxide (upper) or methionine sulfone (down).

P-SER, phosphoserine; TAU, taurine; ASP, aspartic acid; X-AA, unknown amino acid; MET-SFN, methionine sulfone; MET-SFD, methionine sulfoxide; THR, threonine; SER, serine; ASN, asparagine; GLU, glutamic acid; GLN, glutamine; PRO, proline; GLY, glycine; ALA, alanine; A-ABA, α -aminobutyric acid; VAL, valine; γ -ABA, γ -aminobutyric acid; HIS, histidine; LYS, lysine; ARG, arginine.

Table 1. Comparison between HL- and LD-incubations in free amino acids of female pupal brains

Amino acid	Amino acid content (n moles)	
	HL*	LD*
Phosphoserine	0.57±0.02	0.53±0.03
Taurine	0.74±0.03	0.86±0.12
Aspartic acid	1.26±0.05	0.94±0.17
Threonine	1.01±0.04	1.29±0.26
Serine	1.53±0.02	1.71±0.36
Glutamic acid	3.40±0.30	3.23±0.43
Glutamine	2.49±0.21	3.16±0.47
Glycine	1.34±0.25	1.92±0.50
Alanine	3.22±0.55	3.67±0.66
α-Aminobutyric acid	0.33±0.08	0.37 [†]
Valine	0.74±0.10	1.10±0.30
Methionine	0.25±0.02	0.25±0.03
Cystathionine	0.19±0.03	0.21 [†]
Isoleucine	0.63±0.17	0.60±0.09
Leucine	0.44±0.05	0.47±0.09
Tyrosine	0.60±0.13	0.54±0.09
γ-Aminobutyric acid	0.32±0.04	0.32±0.05
Histidine	2.29±0.36	2.20±0.57
Lysine	0.59±0.19	0.74 [†]
Arginine	1.50±0.22	1.72±0.19
Asparagine	0.37 [†]	0.42±0.11
Proline	2.30±0.35	2.39±0.36
Total	26.11	28.64

*The pupae experienced the regimen of high temperature and continuous light (HL), and of low temperature and continuous dark (LD) throughout the period of embryonic development.

[†]Data express mean values of two or three replicates of different preparations. The others are mean values ± SD of four ones.

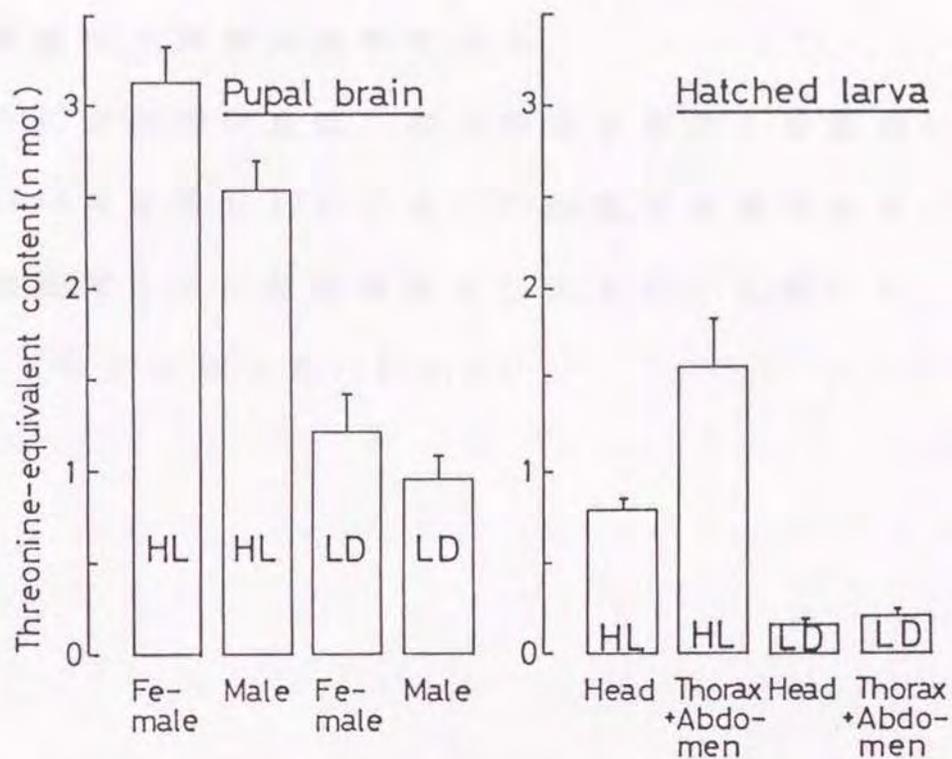


Fig. 3. Concentrations of the amino acid derivative eluted between aspartic acid and threonine in the pupal brains and newly hatched larvae.

HL, the regimen of high temperature (27°C) and continuous light throughout the period of embryonic development; LD, the regimen of low temperature (15°C) and continuous dark throughout the period; Head, head part of newly hatched larva; Thorax + Abdomen, thoracic and abdominal parts of newly hatched larva. The concentration of this amino acid derivative is expressed as threonine equivalent. Vertical bars show mean values \pm SD of four preparations.

顕著な高い含量を示し，非休眠卵産生蛹脳の2.6倍であった（Fig.3）。この傾向は，高温明催青して得られた雄の蛹脳でも同様に確認された。

さらに興味深い点は，孵化幼虫を頭部と胸腹部に切断してX-AAを定量したところ，X-AA量は高温明催青した頭部，胸腹部ともに低温暗催青したものに比較して，4.8から7.1倍と高かった（Fig.3）。

考 察

最近，昆虫を中心とした脳のアミン伝達物質の局在性とその機能が注目されている (Mercer, 1987)。また γ -アミノ酪酸やタウリンを初めとして，グルタミン酸やグリシンが定量され，その役割について論じられている (Wagner *et al.*, 1991)。休眠性との関連については，オオモンシロチョウ (*Pieris brassicae*) の蛹脳のいくつかのアミン伝達物質が測定された (Puiroux *et al.*, 1990) が，直接休眠の制御機構を説明するような知見は得られていない。カイコの休眠性に関しては，早くから食道下神経節を支配する蛹脳の役割が指摘されていた (Fukuda, 1951) が，脳内物質レベルの解析は他の昆虫同様進展しなかった。しかし，脳-食道下神経節連合体の *in vitro* 系で生体外 γ -アミノ酪酸が，休眠ホルモン分泌の抑制作用を示したこと (Hasegawa and Shimizu, 1990) は，脳の休眠制御における機能を明らかにする上で重要と考えられる。

一方，本研究では化蛹直後の脳内の遊離アミノ酸を測定したところ， γ -アミノ酪酸同様他の神経伝達物質と考えられるアミノ酸も，休眠卵産生蛹脳と非休眠卵産生

蛹脳で量的差異が認められなかった (Table 1)。しかしながら、 γ -アミノ酪酸やその他の伝達物質の局在性が十分に考えらるることから、従来のアミン伝達物質と休眠の関連性については今後の解析が待たれる。

また本研究では、アスパラギン酸とスレオニンの中に溶出される未同定の天然型アミノ酸関連物質の存在が示された (Fig. 2)。この含量は休眠卵産生蛹脳と非休眠卵産生蛹脳の間で異なり、しかも高温明催青区と低温暗催青区の雄蛹脳や孵化直後の幼虫体でも大きく異なった (Fig. 3)。またこの特異的アミノ酸関連物質のカイコ卵の休眠環境情報の受容から保持や発現までの一連の過程を解析する上で、一つの重要な糸口になるものと考えられる。

摘 要

1. カイコの 2 化性大造の蛹脳や孵化幼虫の遊離アミノ酸を高速アミノ酸アナライザーで解析した。その結果、 γ -アミノ酪酸、グルタミン酸、アスパラギン酸、タウリン、グリシン、アラニンのような従来知られている脳内伝達性アミノ酸では、休眠性と関係する量的差異は認められなかった。

2. カイコのアミノ酸プールの中でアスパラギン酸とスレオニンの中に未同定物質が溶出し、これは、従来知られているタンパク質分解産物である非天然型アミノ酸のメチオニンスルホキシドやメチオニンスルホンとは異なる天然型アミノ酸関連物質であると考えられた。

3. この未同定物質は、卵期の高温全明条件によって蛹脳や孵化幼虫体で量的に増大した。以上のことから、この特異的アミノ酸関連物質が休眠情報の伝達・保持に関与することを示唆した。

第2章 カイコの組織器官における特異的アミノ酸関連物質の休眠性による差異

昆虫の休眠には非休眠ではまったくみられない特異的な代謝系が作動している。休眠性のカイコ卵にソルビトールとグリセロールが蓄積されるが、非休眠性の卵にはまったく検出されなかった (Chino, 1958)。しかし、非休眠性卵を低温で保存すればこれらのポリオールは出現し変動することから、かならずしも休眠に特異的な代謝物質ではない (古沢・梁, 1987; 古沢ら, 1987)。一方、カイコ卵は休眠に入るとアミノ酸、特にアラニンが特異的に増加することが知られている (Suzuki *et al.*, 1984; Sonobe and Okada, 1984; Osanai *et al.*, 1986)。ところが、昆虫の休眠性とは無関係に、昆虫の血液中の遊離アミノ酸は、脊椎動物のものに比較して6~50倍量も存在し (Wyatt, 1961)、カイコ血液中にも高含量のアミノ酸が確認されている (Fukuda *et al.*, 1952a; 1952b)。

第1章に述べたように休眠誘導に関与するアミノ酸関連物質をカイコ蛹脳で発見したが、本章では休眠性によ

るアミノ酸の構成と含量をカイコの蛹血液または幼虫血液で比較すると同時に、未同定のアミノ酸関連物質 (X-AA) について検討した。

また、昆虫血液を介して体内の組織や器官でそれぞれ特有の物質代謝が行なわれ、物質の異化と同化が絶え間なく繰り返されてホメオスタシスを維持している。そこで、本章ではカイコの血液のほか、蛹脂肪体に着目し、X-AA の脂肪体における存在を調査した。さらに、ニホンミツバチ (*Apis cerana japonica*) とマイマイガ (*Lymantria dispar japonica*) の脳、そしてラットの脳と血液におけるアミノ酸プールも比較分析することにした。

材料と方法

カイコ 2 化性の大造を使用し，高温全明と低温全暗の二つの卵催青条件を設けた。5 齢起蚕の幼虫と蛹化してから 24 時間以内の蛹から採血した。試料作製する除タンパク法にはスルホサリチル酸法を使用した。対照としてトリクロロ酢酸 (TCA) 法についても実験した。すなわち，蛹血液 1 ml に TCA (TCA 50 g を超純水 50 ml で溶解させたもの) 6 ml 加え，よく攪拌後，10,000 rpm で 10 分間遠心分離し，上清を取りだし，TCA はエーテルで抽出してから凍結乾燥し，それに 0.02 N 塩酸 1 ml を加え対照試料とした。前章で使用したスルホサリチル酸法とはスルホサリチル酸を用いる方法であり，本章での主要抽出法である。すなわち，血液 1 ml にスルホサリチル酸 5% 溶液を 1 ml 加えよく攪拌後，10,000 rpm で 5 分間遠心分離し，上清は -80°C で保存した。同じく蛹化してから 24 時間以内の蛹の脂肪体をカイコリンガー液 (Narahashi, 1963) で洗い，その生体重を計量した。脂肪体の生体重 3 g を 3% スルホサリチル酸 5 ml で磨砕後，10,000 rpm で 10 分間遠心処理し，この上清も -80°C で保存した。ニホンミツバチとマイマイガの脳試料は第

1 章に述べたカイコの脳試料作製に従って調製した。

生後 9 週間のラット（静岡浜松の SLC から購入）は採血してからジエチルエーテルで麻酔後，その脳を摘出し液体窒素で処理後，重さを測り -80°C で保存した。ラット血液試料はカイコの血液試料と同様に調製し，その脳試料もカイコの脂肪体試料に従った。分析する直前の処理および遊離アミノ酸の分析は第 1 章に述べた通りである。

結 果

1. 蛹の脂肪体における特異的アミノ酸関連物質の含量

カイコ蛹の脂肪体アミノ酸組成を分析した結果は Fig. 4 と Table 2 にまとめた。Fig. 4 に示したように，遊離アミノ酸は溶出順にホスホセリン，ホスホエタノールアミン，アスパラギン酸，スレオニン，セリン，アスパラギン，グルタミン酸，グルタミン，プロリン，グリシン，アラニン，バリン，メチオニン，シスタチオニン，イソロイシン，ロイシン，チロシン，フェニルアラニン， β -アミノ酪酸， γ -アミノ酪酸，ヒスチジン，3-メ

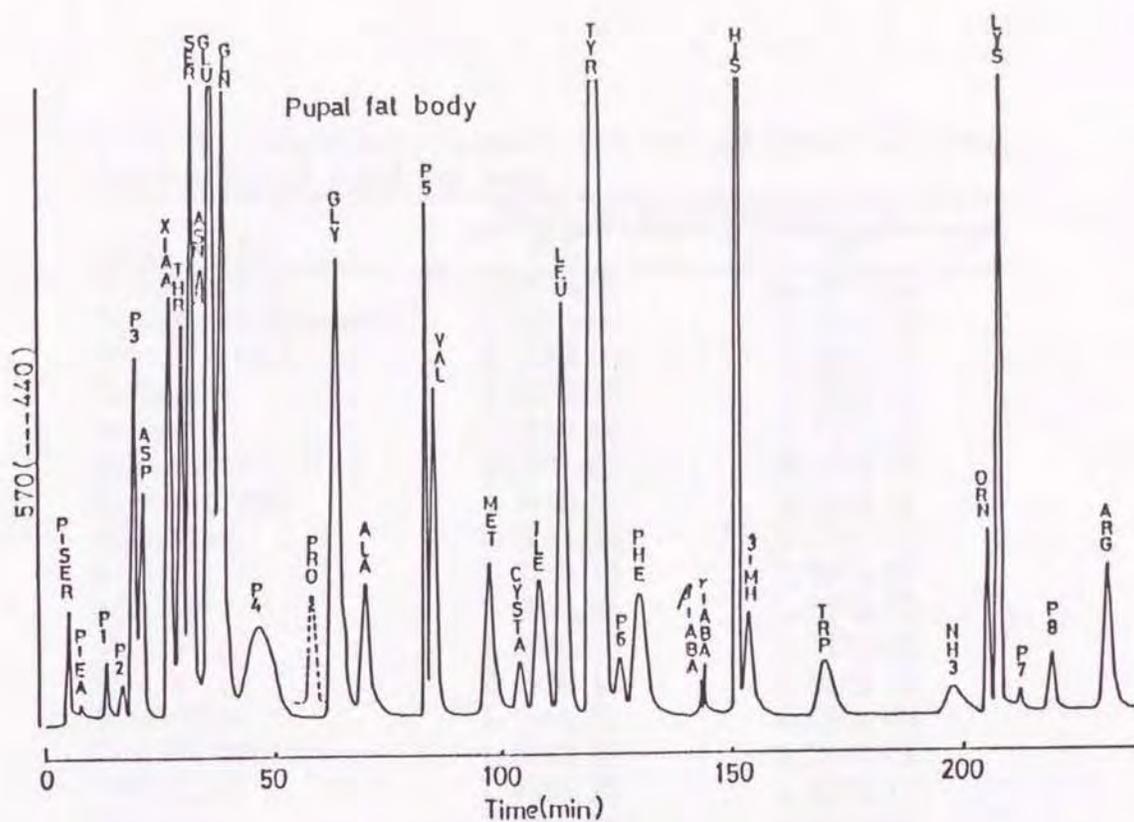


Fig. 4. Chromatogram of free amino acids demonstrated by high speed amino acid analyzer in the fat body of female pupae.

The pupae experienced the regimen of high temperature (27°C) and continuous light throughout the period of embryonic development. P-SER, phosphoserine; P-EA, Phosphoethanolamine; P1 and P2, unknown peak; ASP, aspartic acid; X-AA, unknown amino acid derivative; THR, threonine; SER, serine; ASN, asparagine; GLU, glutamic acid; GLN, glutamine; PRO, proline; GLY, glycine; ALA, alanine; P5, unknown peak; VAL, valine; MET, methionine; CYSTA, cystathionine; ILE, isoleucine; LEU, leucine; TYR, tyrosine; P6, unknown peak; PHE, phenylalanine; β-ABA, β-aminobutyric acid; γ-ABA, γ-aminobutyric acid; HIS, histidine; 3-MH, 3-methylhistidine; ORN, ornithine; LYS, lysine; P7 and P8, unknown peak; ARG, arginine.

Table 2. Comparison between HL- and LD-types in free amino acids of pupal fat body

Amino acids	Amino acid content ($\mu\text{mol/g}$)	
	HL*	LD*
Phosphoserine	0.24 \pm 0.05	0.23 \pm 0.05
Phosphoethanolamine ^{††}	1.27 \pm 0.07	0.62 \pm 0.08
Aspartic acid	0.63 \pm 0.07	0.50 \pm 0.07
Threonine	1.63 \pm 0.18	1.29 \pm 0.14
Serine	2.54 \pm 0.30	2.42 \pm 0.27
Asparagine	7.10 \pm 1.62	4.57 \pm 0.25
Glutamic acid	5.31 \pm 0.51	4.00 \pm 0.31
Glutamine	6.51 \pm 1.74	5.16 \pm 1.23
Proline	1.22 \pm 0.13	0.96 \pm 0.07
Glycine	2.60 \pm 0.24	2.37 \pm 0.22
Alanine	1.69 \pm 0.20	1.11 \pm 0.18
Valine	2.11 \pm 0.12	1.55 \pm 0.18
Methionine	1.15 \pm 0.31	0.86 \pm 0.09
Cystathionine ^{††}	1.61 \pm 0.29	0.39 \pm 0.07
Isoleucine	1.49 \pm 0.26	1.20 \pm 0.17
Leucine	2.07 \pm 0.25	1.90 \pm 0.21
Tyrosine	5.84 \pm 0.62	6.79 \pm 0.72
Phenylalanine	1.05 \pm 0.14	1.08 \pm 0.13
β -Aminobutyric acid	0.87 \pm 0.48	0.52 \pm 0.23
γ -Aminobutyric acid ^{††}	0.38 \pm 0.25	0.19 \pm 0.04
Histidine	6.44 \pm 0.64	4.75 \pm 0.43
3-Methylhistidine	1.16 \pm 0.29	0.73 \pm 0.08
Tryptophan	1.33 \pm 0.23	1.38 \pm 0.12
Ornithine	0.47 \pm 0.09	0.56 \pm 0.10
Lysine	1.82 \pm 0.41	1.89 \pm 0.37
Arginine	0.94 \pm 0.18	0.94 \pm 0.19
Total	59.47	47.96

*The pupae experienced the regimen of high temperature and continuous light (HL), and of low temperature and continuous dark (LD) throughout the period of embryonic development.

[†]The concentrations are expressed as $\mu\text{mol/g}$ fresh weight of pupal fat body. Each data expresses mean values \pm SD of four replicates of different preparations.

^{††}These contents are above 2-fold in HL-incubation.

チルヒスチジン，トリプトファン，オルニチン，リジン，アルギニンが検出された。

一方，8個の未同定ピークである P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8 も検出できた。それらの濃度は P1, P2, P3 のピークがアスパラギン酸当量で，P4 がグルタミン酸当量で，P5 がバリン当量で，P6 がフェニルアラニン当量で，P7, P8 がアルギニン当量で算出した。その結果，既知のアミノ酸と8個の未同定ピークを休眠卵産生蛹と非休眠卵産生蛹で比較したところ，2倍以上の差が認められるのは，ホスホエタノールアミン，シスタチオン， γ -アミノ酪酸，そして P5 であり，いずれも休眠卵産生蛹で高い含量を示した (Tables 2, 5)。特異的アミノ酸関連物質 X-AA は蛹脂肪体に大量に存在し，1g 脂肪体生体重あたり休眠卵産生蛹では 2.61 μmol であり，非休眠卵産生蛹では 1.25 μmol であった。前者の方が 2.2 倍ほど高い含量を示した (Fig. 5)。

2. 幼虫と蛹の血液におけるアミノ酸構成と特異的アミノ酸関連物質の含量

1) 蛹血液

Fig. 6 に示したように，カイコ蛹の血液を分析した結

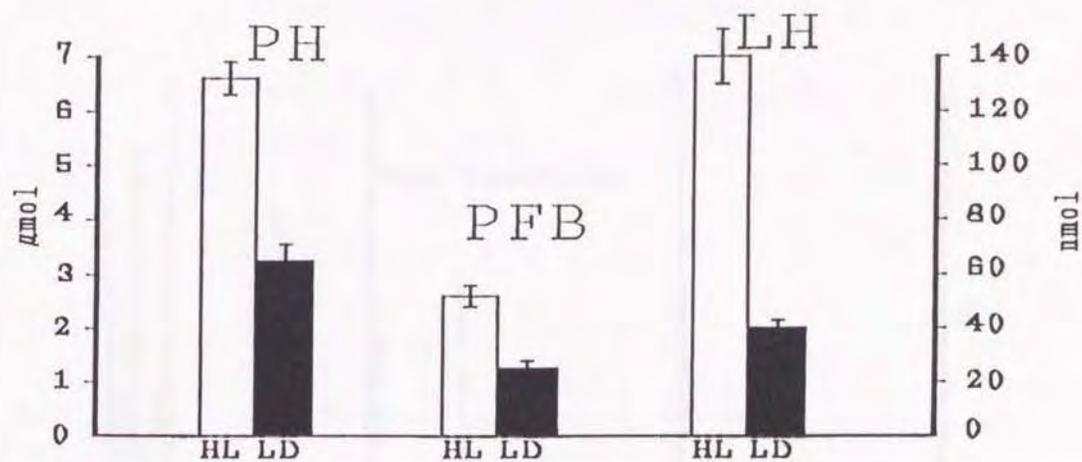


Fig. 5. Concentrations of the amino acid derivative (X-AA) eluted between aspartic acid and threonine in pupal haemolymph, pupal fat body and larval haemolymph.

HL, the regimen of high temperature (27°C) and continuous light throughout the period of embryonic development; LD, the regimen of low temperature (15°C) and continuous dark throughout the period; PH, pupal haemolymph ($\mu\text{mol}/\text{ml}$); PFB, pupal fatbody ($\mu\text{mol}/\text{g}$); LH, larval haemolymph (nmol/ml). The concentration of this amino acid derivative is expressed as threonine equivalent. Vertical bars show mean values \pm SD of four preparations.

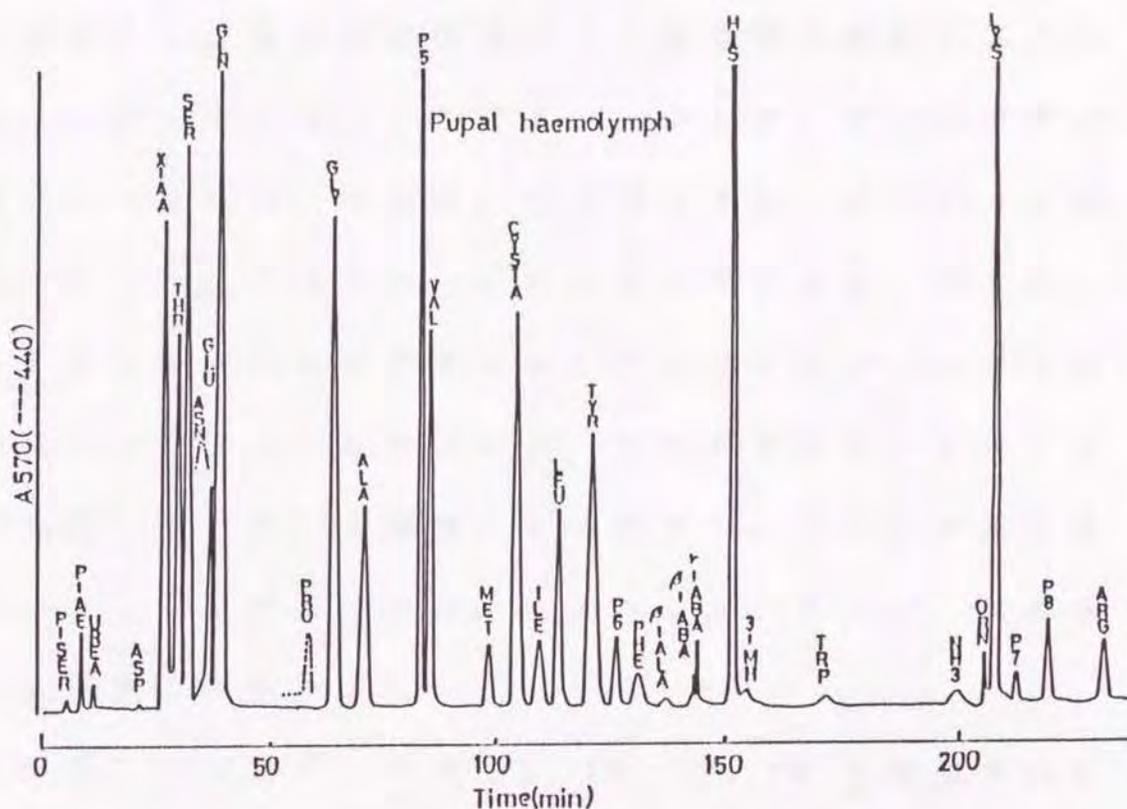


Fig. 6. Chromatogram of free amino acids demonstrated by high speed amino acid analyzer in the haemolymph of female pupae.

The pupae experienced the regimen of high temperature (27°C) and continuous light throughout the period of embryonic development. P-SER, phosphoserine; P-EA, Phosphoethanolamine; UREA, urea; ASP, aspartic acid; X-AA, unknown amino acid derivative; THR, threonine; SER, serine; ASN, asparagine; GLU, glutamic acid; GLN, glutamine; PRO, proline; GLY, glycine; ALA, alanine; P5, unknown peak; VAL, valine; MET, methionine; CYSTA, cystathionine; ILE, isoleucine; LEU, leucine; TYR, tyrosine; PG, unknown peak; PHE, phenylalanine; β -ALA, β -alanine; β -ABA, β -aminobutyric acid; γ -ABA, γ -aminobutyric acid; HIS, histidine; 3-MH, 3-methylhistidine; ORN, ornithine; LYS, lysine; P7 and P8, unknown peak; ARG, arginine.

果，遊離アミノ酸の総量は脂肪体と同様に休眠卵産生蛹で高かった。蛹血液の遊離アミノ酸は溶出順にホスホセリン，ホスホエタノールアミン，ウレア，アスパラギン酸，スレオニン，セリン，アスパラギン，グルタミン酸，グルタミン，プロリン，グリシン，アラニン，バリン，メチオニン，シスタチオニン，イソロイシン，ロイシン，チロシン，フェニルアラニン， β -アラニン， β -アミノ酪酸， γ -アミノ酪酸，ヒスチジン，3-メチルヒスチジン，トリプトファン，オルニチン，リジン，アルギニンが検出された。

一方，未同定ピークの P5，P6，P7，P8 も確認された。これらのアミノ酸とアミノ酸関連物質を休眠卵産生蛹と非休眠卵産生蛹で比較したところ，1.5 倍以上高い含量が認められたのは休眠卵産生型のグルタミン酸，シスタチオニン， γ -アミノ酪酸であった。シスタチオニンと γ -アミノ酪酸はすでに蛹脂肪体でも同様の傾向を示しているが，ホスホセリンの場合は，逆に非休眠卵産生蛹の血液で3倍近い含量であった (Table 3)。

特異的アミノ酸関連物質 X-AA は蛹血液に高い濃度で存在することが判明した。しかも非休眠卵産生蛹では3.25

Table 3. Comparison between HL- and LD-types in free amino acids of pupal haemolymph

Amino acids	Amino acid content ($\mu\text{mol/ml}$) [†]	
	HL*	LD*
Phosphoserine**	0.11±0.02	0.31±0.02
Phosphoethanolamine	6.28±1.55	5.58±0.46
Aspartic acid	0.05±0.03	0.06±0.01
Threonine	4.39±0.47	4.55±0.53
Serine	5.82±1.13	5.75±3.58
Asparagine	6.62±0.32	7.09±0.14
Glutamic acid ^{††}	2.44±0.95	1.09±0.21
Glutamine	26.62±10.72	23.35±8.81
Proline	3.75±0.13	3.78±0.15
Glycine	7.03±1.20	10.36±0.43
Alanine	4.75±0.25	4.03±0.58
Valine	4.86±0.40	4.56±0.17
Methionine	1.14±0.13	1.18±0.10
Cystathionine ^{††}	9.01±0.93	3.83±0.39
Isoleucine	1.87±0.24	1.56±0.17
Leucine	2.39±0.19	2.10±0.20
Tyrosine	5.92±0.26	5.39±0.25
Phenylalanine	0.95±0.12	0.89±0.09
β -Alanine	1.83±0.11	1.44±0.42
β -Aminobutyric acid	2.22±0.30	1.95±0.98
γ -Aminobutyric acid ^{††}	0.75±0.11	0.49±0.07
Histidine	13.87±2.28	13.65±2.17
3-Methylhistidine	0.52±0.09	0.53±0.05
Tryptophan	1.25±0.43	1.02±0.35
Ornithine	0.41±0.03	0.44±0.08
Lysine	5.09±1.37	4.71±3.62
Arginine	1.53±0.35	1.82±0.23
Total	117.08	111.51

*The pupae experienced the regimen of high temperature and continuous light (HL), and of low temperature and continuous dark (LD) throughout the period of embryonic development.

[†]The concentrations are expressed as $\mu\text{mol/ml}$ of pupal haemolymph. Each data expresses mean values \pm SD of four replicates of different preparations.

**This content is about 3-fold in LD-incubation.

^{††}These contents are above 1.5-fold in HL-incubation.

$\mu\text{mol}/\text{ml}$ で、休眠卵産生蛹の方では2倍を超える6.61 $\mu\text{mol}/\text{ml}$ であった (Fig.5)。

2) 幼虫血液

5 齢起蚕の血液における遊離アミノ酸の構成は Fig.7 に示したように、溶出順にホスホセリン、ホスホエタノールアミン、ウレア、スレオニン、セリン、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミン、プロリン、グリシン、アラニン、バリン、システイン、メチオニン、シスタチオニン、イソロイシン、ロイシン、チロシン、フェニルアラニン、ヒスチジン、3-メチルヒスチジン、オルニチン、リジン、アルギニンが検出された。蛹血液と比較すると、未同定ピーク P6 と β -アラニン、 β -アミノ酪酸、 γ -アミノ酪酸、トリプトファンは蛹血液に存在していたが、幼虫血液では検出できなかった。

Table 4 に示したように、幼虫の血液における遊離アミノ酸の総量は高温明催青の幼虫で 49.15 $\mu\text{mol}/\text{ml}$ で、低温暗催青の幼虫もほとんど同じレベルで 47.90 $\mu\text{mol}/\text{ml}$ であった。高温明催青型と低温暗催青型を比較した際に蛹の脂肪体や血液の場合と大きく異なる点は、低温暗催青した幼虫の血液で顕著な高含量のアミノ酸がホ

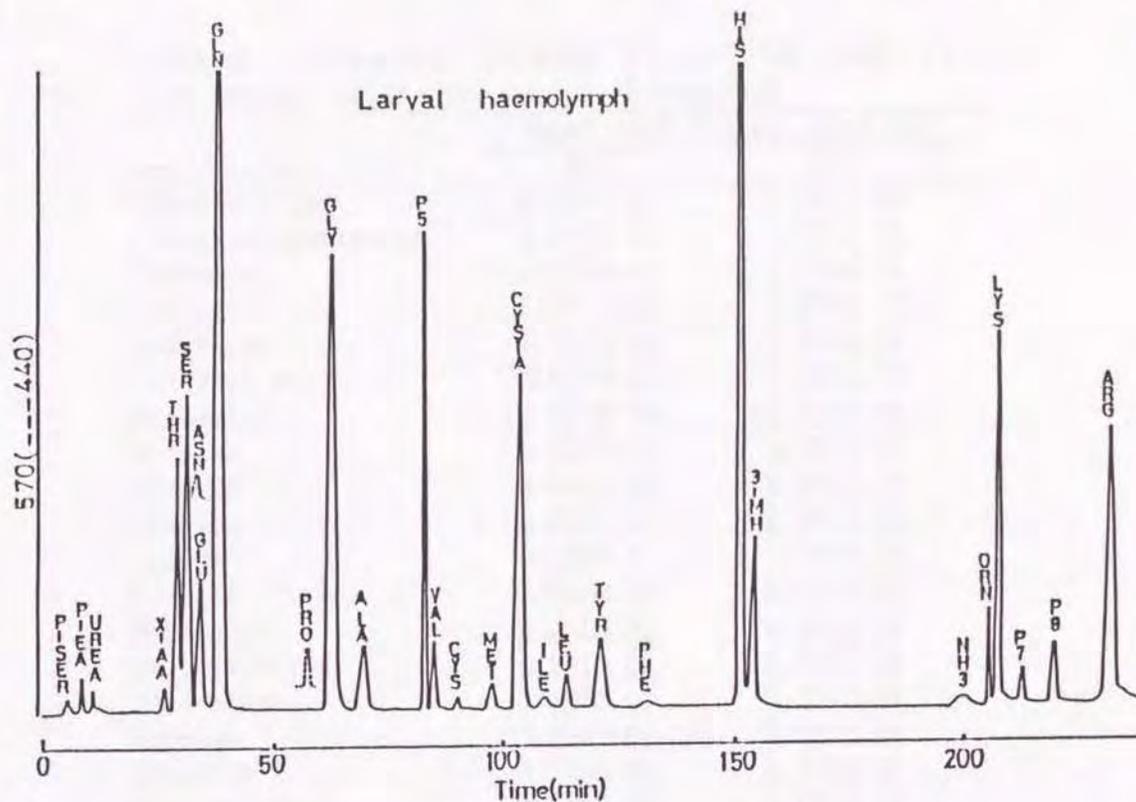


Fig.7. Chromatogram of free amino acids demonstrated by high speed amino acid analyzer in the haemolymph of female larvae.

The pupae experienced the regimen of high temperature (27°C) and continuous light throughout the period of embryonic development. P-SER, phosphoserine; P-EA, Phosphoethanolamine; UREA, urea; X-AA, unknown amino acid derivative; THR, threonine; SER, serine; ASN, asparagine; GLU, glutamic acid; GLN, glutamine; PRO, proline; GLY, glycine; ALA, alanine; P5, unknown peak; VAL, valine; CYS, Cystine; MET, methionine; CYSTA, cystathionine; ILE, isoleucine; LEU, leucine; TYR, tyrosine; PHE, phenylalanine; HIS, histidine; 3-MH, 3-methylhistidine; ORN, ornithine; LYS, lysine; P7 and P8, unknown peak; ARG, arginine.

Table 4. Comparison between HL- and LD-types in free amino acids of larval haemolymph

Amino acids	Amino acid content ($\mu\text{mol/ml}$) [†]	
	HL*	LD*
Phosphoserine	0.06 \pm 0.01	0.06 \pm 0.02
Phosphoethanolamine ^{**}	0.01 \pm 0.01	1.32 \pm 0.04
Threonine	1.67 \pm 0.01	1.63 \pm 0.06
Serine ^{**}	1.91 \pm 0.08	4.26 \pm 0.20
Asparagine	7.45 \pm 0.25	7.21 \pm 0.01
Glutamic acid	0.87 \pm 0.01	0.99 \pm 0.38
Glutamine	12.98 \pm 0.35	12.33 \pm 3.41
Proline	0.93 \pm 0.01	1.14 \pm 0.01
Glycine	3.84 \pm 0.01	5.09 \pm 0.37
Alanine	0.81 \pm 0.01	0.97 \pm 0.01
Valine ^{**}	0.48 \pm 0.01	1.19 \pm 0.39
Cystine	0.05 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01
Methionine	0.23 \pm 0.01	0.29 \pm 0.04
Cystathionine	4.38 \pm 0.05	0.62 \pm 0.04
Isoleucine	0.19 \pm 0.01	0.23 \pm 0.01
Leucine	0.25 \pm 0.01	0.28 \pm 0.01
Tyrosine ^{**}	0.79 \pm 0.02	1.71 \pm 0.01
Phenylalanine	0.11 \pm 0.01	0.15 \pm 0.01
Histidine	5.43 \pm 0.04	3.45 \pm 0.12
3-Methylhistidine	1.18 \pm 0.01	1.44 \pm 0.71
Ornithine	0.36 \pm 0.01	0.31 \pm 0.01
Lysine	1.56 \pm 0.02	1.50 \pm 0.27
Arginine	3.61 \pm 0.06	1.68 \pm 0.04
Total	49.15	47.90

*The larvae experienced the regimen of high temperature and continuous light (HL), and of low temperature and continuous dark (LD) throughout the period of embryonic development.

[†]The concentrations are expressed as $\mu\text{mol/ml}$ of the larval haemolymph. Each data expresses mean values \pm SD of four replicates of different preparations.

^{**}These contents are above 2-fold in LD-incubation.

Table 5. Unidentified peaks in pupal haemolymph of the silkworm

Peaks*	Pupal haemolymph ($\mu\text{mol/ml}$)		Pupal fat bodies ($\mu\text{mol/g}$)		Larval haemolymph ($\mu\text{mol/ml}$)	
	HL	LD	HL	LD	HL	LD
P1	- [†]	-	0.16 \pm 0.03	0.13 \pm 0.03	-	-
P2	-	-	0.09 \pm 0.04	0.07 \pm 0.02	-	-
P3	-	-	1.04 \pm 0.31	0.84 \pm 0.21	-	-
P4	-	-	141.43 \pm 28.09	103.47 \pm 17.71	-	-
P5	~**	~	4.80 \pm 0.32	2.17 \pm 0.16	3.03 \pm 0.05	0.68 \pm 0.21
P6	1.23 \pm 0.78	0.94 \pm 0.34	0.67 \pm 0.21	0.51 \pm 0.11	-	-
P7	0.48 \pm 0.25	0.23 \pm 0.02	0.51 \pm 0.06	0.44 \pm 0.09	0.36 \pm 0.01	0.28 \pm 0.01
P8	1.40 \pm 0.59	0.69 \pm 0.13	0.75 \pm 0.20	0.31 \pm 0.06	0.72 \pm 0.02	0.54 \pm 0.02

*These contents are expressed as aspartic acid equivalent in P1, P2 and P3, as valine glutamine equivalent in P4, as valine equivalent in P5, as phenylalanine equivalent in P6 and as arginine equivalent in P7 and P8.

**These contents passed the detector sensitivity in this experiment.

[†]Trace

スホエタノールアミン，セリン，バリン，チロシンであった（Table 4）。しかし，未同定の X-AAと P5 は，高温明催青型で 3.5 倍および 4.5 倍と高い含量を示した（Table 5, Fig.5）。

3. 昆虫とラットの組織器官における遊離アミノ酸プール

ニホンミツバチとマイマイガの脳におけるアミノ酸プールは Fig.8 に示したように，アミノ酸の構成はカイコ蛹脳と異なり，X-AAは検出できなかった。それぞれの含量は Table 6 に示したように，カイコ蛹脳にはアミノ酸の種類が多く，ニホンミツバチの働き蜂の成虫脳とマイマイガの雌蛹脳では，アスパラギン， α -アミノ酪酸，そしてシスタチオニンは痕跡程度であった。ステージによる差も考えられるが，ニホンミツバチの場合，メチオニン，イソロイシン，チロシン，ヒスチジンも痕跡程度であった。ニホンミツバチの働き蜂の成虫脳においては，タウリンと γ -アミノ酪酸がそれぞれの蛹脳に比較して 14~29 倍の含量であった。

なお，Fig.9 にラット成体雌脳の遊離アミノ酸の溶出パターンを，Table 7 には脳と血液中の各アミノ酸含量

を示した。使用したラット脳は 1.65 g であり，総含量は 49.11 $\mu\text{mol}/\text{g}$ となり血液中の総含量は 6.29 $\mu\text{mol}/\text{ml}$ であった。昆虫の血液に比較した場合 (Tables 4, 7) , ラットの遊離アミノ酸量は 1/7~8 相当である。また，すでにカイコの組織器官で確認されている X-AA と P5 は，ラットの脳と血液では検出できなかった。

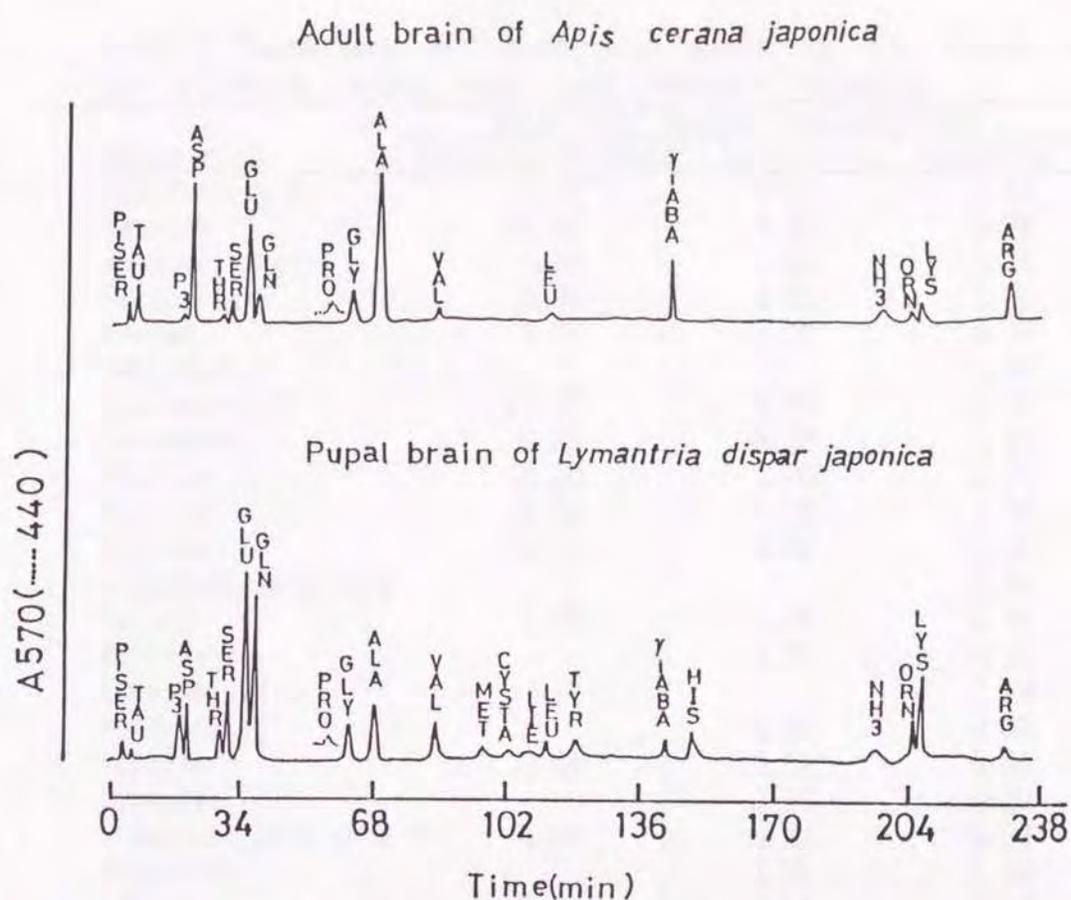


Fig. 8. Chromatograms of free amino acids demonstrated by high speed amino acid analyzer in the adult brains of the honeybee and the pupal brains of the gypsy moth.

P-SER, phosphoserine; TAU, taurine; P3, unknown peak; ASP, aspartic acid; THR, threonine; SER, serine; GLU, glutamic acid; GLN, glutamine; PRO, proline; GLY, glycine; ALA, alanine; VAL, valine; MET, methionine; CYSTA, cystathionine; ILE, isoleucine; LEU, leucine; TYR, tyrosine; γ -ABA, γ -amino-butyric acid; HIS, histidine; ORN, ornithine; LYS, lysine; ARG, arginine.

Table 6. Comparison of amino acid pools in the brains of the silkworm, gypsy moth, and Japanese honeybee

Amino acids	Amino acid content (nmoles/brain)		
	Japanese honeybee*	Gypsy moth ¹	Silkworm ¹⁺
Phosphoserine	0.14**	0.32	0.57
Taurine ¹⁾	11.55	0.40	0.74
Aspartic acid	8.80	0.99	1.26
Threonine	0.36	0.66	1.01
Serine	1.68	1.57	1.53
Asparagine	- ²⁾	-	0.37
Glutamic acid	11.71	6.96	3.40
Glutamine	6.28	10.23	2.49
Proline	4.20	1.06	2.30
Glycine	4.29	1.24	1.34
Alanine	28.47	2.98	3.22
α -Aminobutyric acid	-	-	0.33
Valine	1.98	1.49	0.74
Methionine	-	0.37	0.25
Cystathionine	-	-	0.19
Isoleucine	-	0.58	0.63
Leucine	0.84	0.55	0.44
Tyrosine	-	0.91	0.60
γ -Aminobutyric acid ¹⁾	4.50	0.27	0.32
Histidine	-	1.35	2.29
Lysine	0.90	0.51	0.59
Arginine	6.21	0.48	1.50
Total	91.91	32.92	26.11

*Adult brains of workers

**The concentrations are expressed as nmol/ brain. Each data expresses mean values of two replicates of different preparations.

¹Pupal female brains within 24hr after larval-pupal ecdysis.

¹⁺Pupal female brains within 24hr after larval-pupal ecdysis.

¹⁾ These contents are prominent in Japanese honeybee.

²⁾ Trace

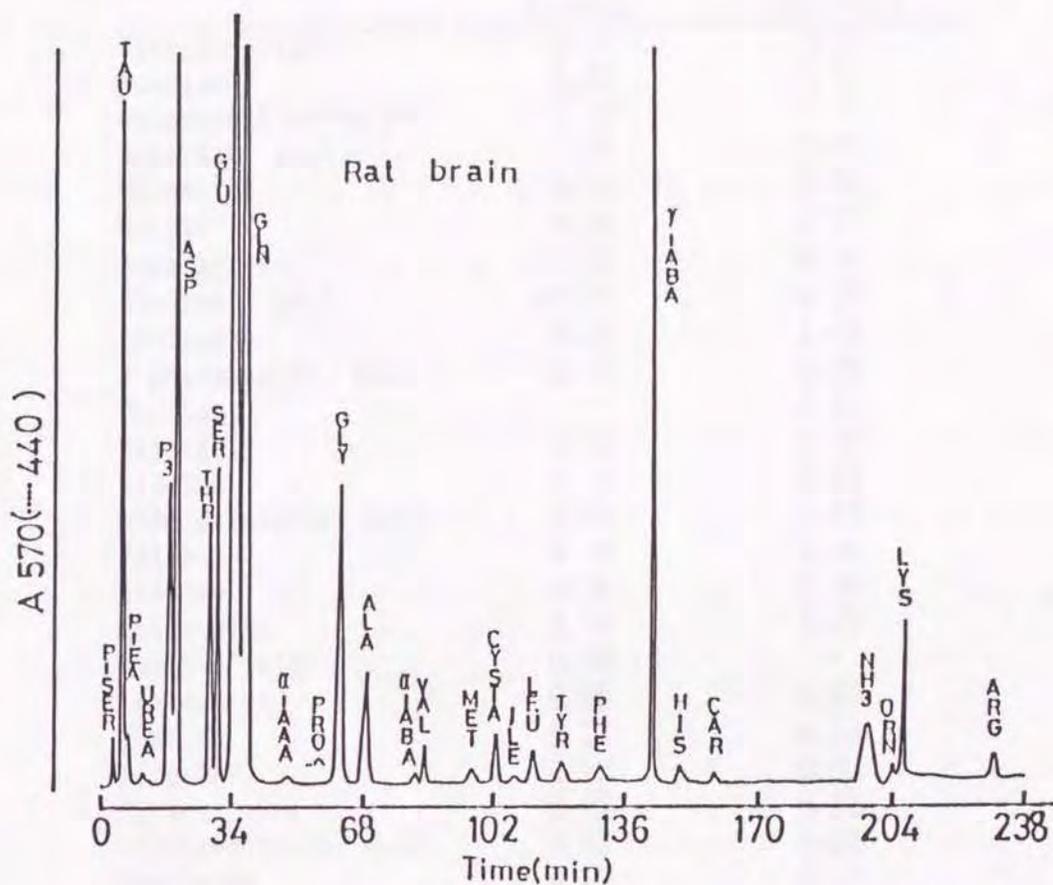


Fig. 9. Chromatogram of free amino acids demonstrated by high speed amino acid analyzer in the rat brain.

P-SER, phosphoserine; TAU, taurine; UREA, urea; P3, unknown peak; ASP, aspartic acid; THR, threonine; SER, serine; GLU, glutamic acid; GLN, glutamine; A-AAA, α -aminoadipic acid; PRO, proline; GLY, glycine; ALA, alanine; A-ABA, α -aminobutyric acid; VAL, valine; MET, methionine; CYSTA, cystathionine; ILE, isoleucine; LEU, leucine; TYR, tyrosine; PHE, phenylalanine; G-ABA, γ -aminobutyric acid; HIS, histidine; CAR, Carnosine; LYS, lysine; ORN, ornithine; ARG, arginine.

Table 7. Amino acid pools of haemolymph and brain in the adult female rat

Amino acids	Amino acid content	
	Brain ($\mu\text{mol/g}$)	Haemolymph ($\mu\text{mol/ml}$)
Phosphoserine	0.11*	0.03
Taurine	5.22	0.29
Phosphoethanolamine	1.25	-†
Aspartic acid	2.84	0.05
Threonine	0.94	0.32
Serine	0.98	0.27
Asparagine	11.04	0.34
Glutamic acid	10.24	0.23
Glutamine	9.60	1.55
α -Aminoadipic acid	0.13	0.08
Proline	-	0.20
Glycine	1.44	0.39
Alanine	0.78	0.42
α -Aminobutyric acid	0.03	0.03
Valine	0.14	0.19
Cystine	0.01	0.06
Methionine	0.08	0.06
Cystathionine	0.35	-
Isoleucine	0.05	0.06
Leucine	0.12	0.13
Tyrosine	0.12	0.09
Phenylamine	0.15	0.12
γ -Aminobutyric acid	2.58	0.04
Histidine	0.13	0.10
Carnosine	0.21	-
Tryptophan	-	0.10
Ornithine	0.06	0.15
Lysine	0.38	0.73
Arginine	0.13	0.26
Total	49.11	6.29

*Each data expresses mean values of two replicates of different preparations.

†Trace.

考 察

昆虫における重要な遊離アミノ酸プールは血液である (Wyatt, 1961; Chen, 1985; Mullins, 1985)。昆虫の休眠卵と非休眠卵の間での遊離アミノ酸プールを比較する報告があり, 休眠に入るとアミノ酸, 特にアラニンやプロリンが特異的に増加することが, カイコ卵 (Sonobe and Okada, 1984; Suzuki *et al.*, 1984; Osanai *et al.*, 1986) やホシマダラバエ亜科の *Eurosta solidagins* (Storey and Storey, 1983) で知られている。しかし, 休眠ステージの前段階である休眠誘導過程のアミノ酸プールの解析は今日まで不十分である。特にカイコ2化性の場合のように, 休眠ホルモンが分泌される蛹初期や幼虫期の血液を中心とした組織器官の遊離アミノ酸プールに関する知見はまったくない。

そこで本研究では, 蛹化 24 時間以内の休眠卵産生蛹と非休眠卵産生蛹を比較検討したところ, 脂肪体と血液の遊離アミノ酸総含量には大きな差がなく (Tables 2, 3), 第1章で明らかにした蛹脳の総含量と同じように卵期の催青条件の違いによる影響がなかった (Table 1)。5 齢起蚕では血液だけの分析結果であるが, 総含量は蛹

同様にほぼ等しいものであった (Table 4)。

しかし、遊離アミノ酸の中には卵期の催青条件の違いを反映するような濃度差が認められるものが存在していた。休眠卵産生蛹の脂肪体と血液において、共通して1.5~4倍の含量のレベルを示したのはシスタチオニンと γ -アミノ酪酸であった (Tables 2, 3)。未同定のものとして、X-AAがやはり休眠卵産生蛹型で1.8~2.1倍と高い含量であった (Fig. 5)。さらに、この傾向が5齢起蚕でも確認されるのは、血液だけの分析結果であるが、シスタチオニンとX-AAのみだけであった (Table 4, Fig. 5)。なお、蛹の血液で高含量過ぎたため本研究の分析システムでは測定できなかったP5は、休眠卵産生蛹では2.2倍、高温明催青処理した5齢起蚕では4.5倍という高含量であったが、第1章の蛹脳では検出されていない (Fig. 1)。シスタチオニンもまた蛹脳で明らかになったように、卵期の催青条件の違いは認められない (Table 1)。こうして、カイコの組織器官の遊離アミノ酸プールの解析を通して、休眠情報の保持・伝達系という視点から注目できるアミノ酸関連物質はX-AAであるということが判明した。

一方本研究では、比較生理化学的立場から、ニホンミツバチやマイマイガにおける脳の遊離アミノ酸プールについても検討した。その結果、カイコのX-AAはいずれでも検出されなかった (Fig. 8, Table 6)。さらに、ラットの脳と血液についても分析したが、X-AA はまったく認められず (Fig. 9, Table 7)、カイコの X-AA は極めて特異的なアミノ酸関連物質であると推定される。脳の他の構成アミノ酸について検討してみると、ニホンミツバチ働き蜂の成虫脳ではタウリン含量が高く、カイコやマイマイガの蛹脳に比較して 16~29 倍も含まれていた (Table 6)。ニホンミツバチのこのレベルは、ラットの脳 (Ida and Kuriyama, 1983; Table 7) に匹敵するものであり、高次の行動活動においてタウリンが抑制性伝達物質として深く関与していることを示唆するものである。この点は、まったく同じ機能を持つγ-アミノ酪酸についても言えることである (Tables 6, 7)。本研究では、カイコやマイマイガの成虫脳について分析していないので、比較生理化学的に脳のアミン伝達物質と高次の行動との関連性については十分に解析できないが、一つの興味ある今後の課題として注目される。また、昆虫

脳に関して言えば，ニホンミツバチ働き蜂の成虫では極めて高い濃度のアラニンが存在しており (Table 6)，これがラットの脳代謝との違いを示唆するものかまたは越冬中の成虫脳であることから耐寒性と関連したものか不明である。カイコやクロバエ科の一種 *Calliphora erythrocephala* の昆虫脳は脂質をエネルギー源としている (Wegener, 1983) が，ニホンミツバチ働き蜂の成虫脳における高含量のアラニンの存在はもう一つの興味深い今後の課題である。

摘 要

1. カイコの 2 化性大造を用い，高温明催青および低温暗催青で得られた 5 齢起蚕の幼虫および蛹の血液と脂肪体の遊離アミノ酸プールを解析した。その結果，特異的アミノ酸関連物質 (X-AA) が存在し，いずれにおいても高温明催青処理したもので 1.7~3.5 倍と高い含量を示した。

2. 休眠卵産生蛹の血液や脂肪体のシスタチオニンと γ -アミノ酪酸は非休眠卵産生蛹のものに比較して 1.5~4 倍高い含量であり，5 齢起蚕の血液では γ -アミノ酪酸は検出されなかったが，シスタチオニン含量は高温明催青型で 7 倍も高かった。未同定ピーク P5 もまたシスタチオニンとまったく同様のパターンを示した。しかし，両アミノ酸はカイコの蛹脳では検出されないか，または催青条件による違いは認められていない。

3. ニホンミツバチの働き蜂成虫脳，マイマイガの蛹脳，およびラットの成体脳における遊離アミノ酸プールを分析した結果，カイコで発見した特異的アミノ酸関連物質は検出できなかった。なお，ニホンミツバチの働き

蜂成虫脳に高含量で存在するタウリン， γ -アミノ酪酸，
そしてアラニンを比較生理化学的に考察した。

4. 以上のことから，カイコの卵休眠情報の保持・伝
達系に深く関与するのは，特異的アミノ酸関連物質（ γ -
AA）であると推論した。