

Kontyû, 35 (3) : 248-258. 1967

## 昆虫生化学の進歩，とくに変態を中心として

小林 勝利

農林省蚕糸試験場生理部

### Biochemical aspects of insect metamorphosis

By Masatoshi Kobayashi

Sericultural Experiment Station, Tokyo

#### は し が き

昆虫の発生過程に見られる変態や休眠は眼のあたりに見られる極めて鮮かな生物現象であるため、従来から形態学、生理学および化学的領域において盛んに研究が進められているが、昆虫生化学という分科が国際的にも採り上げられるようになったのは比較的新しいことで、1958年にウィーンで開かれた国際生化学会議であつたように思われる。

これまでに積上げられきたこの分野の研究はエネルギー生産と各種代謝に関する業績がその主要なものと思われるが、その多くは昆虫体内の生理学的変化と昆虫の発生を度外視しては理解できない事柄であるといえよう。例えば、昆虫に特異な各種代謝の調節やその切り換えの仕組みは昆虫の形態形成と極めて密接な連関のもとに行なわれる。

昆虫生化学全般に涉つて最近の進歩を眺めることは極めて興味深いことと思われるが、それらの詳細は Gilmour<sup>15)</sup> および Karlson<sup>23)</sup> などの成書に譲るとして、ここでは紙面の都合で、とくに昆虫の変態の生化学について主として日本における最近の研究動向を紹介することにする。

#### I. 胚発生と解糖

一般に生体の調節機構として、哺乳動物では神経とホルモン、昆虫類ではホルモン、微生物では酵素が知られている。しかしながら昆虫体内におけるすべての化学的調節はホルモンのみによつて行なわれるものではなく、ホルモンと酵素その他の生理活性物質との間に明瞭な一線を描くことは困難なことである。例えば、昆虫体内の糖として特異的なトレハロースの含量は糖がより多くエネルギー生産に使われる時期には、特定器官において、これがより多く生産されて血流中へ放出され、血糖量はあるレベルに保たれる。このような生体の調節はある種の化学物質（ホルモンや酵素）を除外して考えることはむづかしい。

よく知られているように、カイコの卵には不休眠卵と休眠卵とがあり、前者の胚は産下後引続いて発生が進み、約10日を経て孵化するが、後者の胚は産下後約24時間でその発生速度が急激に衰え休眠胚となる。発生の進行している胚の呼吸量が高い値を示すが、休眠胚のそれは極めて低く、また発生の進んでいる卵のグリコゲンもは発生の過程で消費され、

とくに発生の後半期に急激に減少する。ところが休眠卵のグリコゲン量は産下後 24 時間では高い値を示すが、その後胚が休眠に入り、呼吸の低下がはじまると、同時にグリコゲンは急激に減少し、産下後 2 週間を経るとはじめの 1/10 量以下となり、休眠期間中はこの低いレベルが維持される。休眠終了とともにグリコゲンは再び増加し、胚発生の再開期には最初のレベルの約 88% まで回復するが、胚発生に伴って再び減少する。

そこで、胚の休眠期におけるグリコゲンの運命について詳細な追究が茅野<sup>5~8)</sup> によつて行なわれ、これが休眠期に 2 種の多価アルコール、ソルビットとグリセリンに変わることが明らかにされた。ついでこれらの多価アルコールの生成反応に参与する 4 つの酵素が究明された。

- a) グルコース + TPNH  $\rightleftharpoons$  ソルビット + TPN<sup>+</sup>
- b) グルコース-6-リン酸 + TPNH  $\rightleftharpoons$  ソルビット-6-リン酸 + TPN<sup>+</sup>
- c) グリセリンアルデヒド + TPNH  $\rightleftharpoons$  グリセリン + TPN<sup>+</sup>
- d) デオキシアセトン-リン酸 + DPNH  $\rightleftharpoons$   $\alpha$ -グリセロリン酸 + DPN<sup>+</sup>

この実験により、休眠卵では DPNH や TPNH から分子状の酸素にいたる一連の呼吸酵素系が停止し、このため DPNH や TPNH が溜り、上記の反応が右側に傾き、多価アルコール生成が進むことが明らかにされた。さらに上記の 4 反応のうち、3 つが補酵素として TPNH を必要とすることから ペントースホスフェイト回路について検討され、TPNH の生成に関する酵素系の重要なメンバーである グルコース-6-リン酸脱水素酵素の存在が明らかにされた。現在までには、上記の休眠卵にみられる代謝の切り換えに休眠ホルモンが参与しているか否かは知られていないが、このホルモンが何らかの経路を経て休眠卵の物理化学的状態を支配する情報の伝達者であるといえるのではなからうか。なお、フタスジバツタではソルビットやグリセリンは休眠卵の主要な糖ではなくして血糖におけると同様にこれがトレハロースであるという<sup>36)</sup>。

一方、蛹休眠に入ると、その呼吸酵素系、とくにチトクローム系に著しい変動が起り、休眠覚醒とともに発育期の状態に戻ることから脱皮ホルモン（前胸腺ホルモン）がこれに参与していると思われるが<sup>35, 39)</sup>、ここにおいてもいまだ直接的な証明は行なわれていない。しかし、ホルモンと代謝の切り換えとの関連を生化学的にとらえた研究といえよう。なお、カイコの卵では初期発生においてチトクローム C がなくて b<sub>5</sub> およびチトクローム酸化酵素がその主要なものであるという<sup>9)</sup>。

## II. 後胚発生とホルモン

### 1. 幼若ホルモンの化学

昆虫から幼若ホルモン（アラタ体ホルモン）を抽出するという試みは Williams<sup>44)</sup> によつてセクロピアサンの雄蛾の腹部ではじめて行なわれ、最近 0.3~0.4 $\mu$ g でポリヘムスサンやシンテイアサンにホルモン活性を示す物質が分離され、ガスクロマトグラフィーと質量分析によつてこの活性物質の主成分はメチルエポキシヘキサデカノエートと同定された。しかし、この合成品および異性体の生物検定では陰性の結果が得られたため幼若ホルモン

は上記物質と同様な化学的特性をもつ物質であろうと述べられている<sup>45)</sup>。

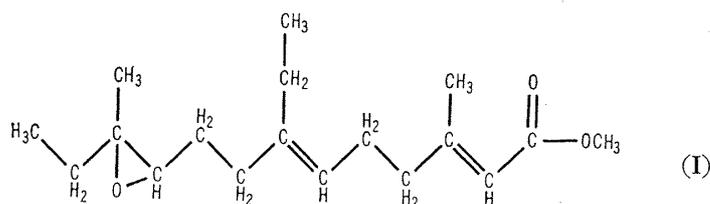
一方、Williams の初期の研究<sup>44)</sup> 以後、他の無脊椎動物、牛の副腎皮質、人間の胎盤、微生物および植物油からもこれと同様な活性物質の抽出が行なわれた<sup>14)</sup>。しかしながらこの時点においてはホルモンの化学的特性の多くは不明であつた。

1961年に Schmielek<sup>38)</sup> はチャイロコメゴミムシダマシの糞から2種の幼若ホルモン活性物質、ファルネソールとファルネシールとを単離し、合成品にも同様な生理活性のあることを見出した。この研究以後、ファルネソール関連物質を用いて幼若ホルモン活性物質の究明が相次いで行なわれるようになった(第1表)。

第1表. 幼若ホルモン活性物質.

ホルモン活性物質名	抽出原料	生物検定昆虫
ファルネソール	チャイロコメゴミムシダマシ	チャイロコメゴミムシダマシ
ファルネシールメチルエーテル	化学薬品	チャイロコメゴミムシダマシ
ペーパーファクター	紙(パルプ材)	ホシカメムシ
メチルエポキシヘキサデカノエート*	セクロピアサン	ヤママユガ科の昆虫
ファルネッセン酸の酸処理物質	化学薬品	ホシカメムシ
10, 11-エポキシファルネッセン酸メチルエステル	化学薬品	チャイロコメゴミムシダマシ
ジユバビオン(トドマツ酸メチルエステル)	バルサムモミ	ホシカメムシ
メチル10-エポキシ-7-エチル-3, 11-ジメチル-2, 6-トリデカディエノエート(I)	セクロピアサン	セクロピアサン

\* 幼若ホルモン活性はない。



Bowersら<sup>2)</sup>によると、10, 11-エポキシファルネッセン酸のメチルエステルはチャイロコメゴミムシダマシに対してファルネソールより1600倍、ファルネシールメチルエーテルより16倍強力なホルモン活性を示すという。その後、パルプ材に使われるバルサムモミから幼若ホルモン活性物質が単離され、これがトドマツ酸のメチルエステルであることが明らかにされ、ジユバビオン(Juvabione)と名づけられた。しかし、この物質のエポキシサイドがより強力なホルモン活性を示すことから真性の幼若ホルモンは単環性のセスキテルペンであろうと想像された<sup>1)</sup>。ところがごく最近のC & E News(1967年4月10日)に

よると、先にセクロピアサンから幼若ホルモンを単離した Rölller ら<sup>37)</sup>によりこのホルモンの化学構造が解明されたというが (Methyl 10-epoxy-7-ethyl-3, 11-dimethyl-2, 6-tridecadienoate), 最近その詳報も公表された<sup>補1)</sup>.

## 2. 幼若ホルモンの作用機作

幼若ホルモンの作用機作に関する研究の多くはアラタ体の摘出および移植実験によるもので、ホルモン抽出物を用いての研究は比較的少ない。

昆虫のアラタ体が消化、組織の生長、リピッド代謝、蛋白合成および呼吸代謝などに影響をおよぼす例がこれまでに多数知られている<sup>14)</sup>。

バッタの幼若ホルモンはミトコンドリアのチトクローム系に作用し、ATP の合成を支配するといわれ<sup>11)</sup>、またテントウムシの組織の摩砕液にアラタ体または幼若ホルモン抽出物を加えると、幼若ホルモンは琥珀酸とチトクローム C との間の呼吸系を刺戟するのではなからうかと述べられている。一方、幼若ホルモン注射により蛹の真皮細胞が正常蛹や成虫のそれよりも大形になるが、種々の昆虫の実験で、幼若ホルモンに対する標的器官の感応は比較的短時間であろうといわれる<sup>13)</sup>。

ヤママユガ科の蛹は幼若ホルモン抽出物の注射により、第2次蛹となるが、この場合に脂肪組織、血球および気管上皮細胞で RNA 合成が盛んになる。しかし、幼若ホルモンは前胸腺ホルモンが存在しないと、RNA 合成には全く影響しないことが明らかにされている<sup>34)</sup>。また、Chen<sup>4)</sup>らはゴキブリからアラタ体を摘出し、これへセクロピアサンから得た幼若ホルモン抽出物を注射したところ卵母細胞は発育するが、フェルネソールを注射してもこの効果は見られなかつた。ところがフェルネソールをゴキブリに塗布した場合には卵巣が発育することから生殖腺刺戟ホルモンと卵黄形成ホルモンとは同じような化学物質であろうと考えたが、真性ホルモンを用いてさらに検討する必要がある。さらに、ゴキブリのアラタ体とリピッド合成との関係がアラタ体摘出により調べられ<sup>43)</sup>、アラタ体はトリグリセライドと磷脂質の変換に作用し、炭水化物代謝には明瞭な影響がないと報告されたが、アラタ体移植により、これが正常に戻るということが知られていない。なお、チャイロコメゴミムシダマシヘフェルネソールメチルエーテルを注射すると、G-6-P脱水素酵素、アルドラーゼおよびグルタミン酸トランスアミナーゼの活性が高くなるという<sup>12)</sup>。

この他、多数の業績が見られるが、幼若ホルモンの直接的な作用に関する研究は、すべて今後に残されているといえよう。

## 3. 脱皮ホルモンの化学

昆虫の前胸腺ホルモンはカイコの蛹からはじめて Butenandt & Karlson<sup>3)</sup>により単離され、その実験式は  $C_{18}H_{30}O_4$  と示され、エクデイゾン (Ecdysone—脱皮ホルモン) と名づけられた。エクデイゾンには  $\alpha$ ,  $\beta$  の2種があり、他の甲殻類の脱皮にも作用するといわれる<sup>21)</sup>。なお、甲殻類の体組織中の同様な活性物質はエクデイゾンよりも極性が高く、アルミナに吸着され易い<sup>25)</sup>。その後エクデイゾンの実験式は  $C_{27}H_{44}O_6$  と変更され、1965年にその化学構造が解明された<sup>20)</sup>。

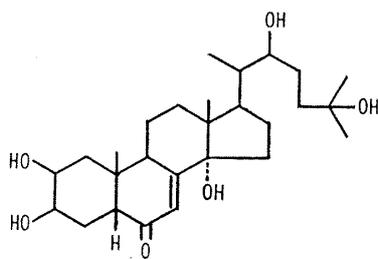
$\alpha$ -エクデイゾンは  $0.0075\mu\text{g}$  でクロバエの分離腹部の蛹化を誘導するが、最近では  $0.01$

$\mu\text{g}$  を 1CE (Calliphora-Einheit) と呼んでいる。エクデイゾンの化学構造が判明するやドイツとアメリカで相前後してその合成が行なわれた<sup>27,40)</sup>。

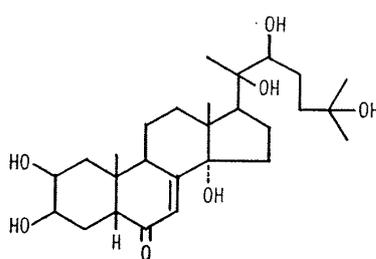
一方、先に述べた甲殻類の脱皮ホルモンはその後イセエビの1種から単離され、その特徴はエクデイゾンの20位の炭素にOHが附加されているらしいことであるとし、クラストエクダイソン (Crustecdysone) と名づけられた<sup>16)</sup>。しかし、エクデイゾンは mg 当り 100,000CE であるのにクラストエクダイソンは 30,000CE で、その活性がやや弱いといわ

第2表. 脱皮ホルモン活性物質.

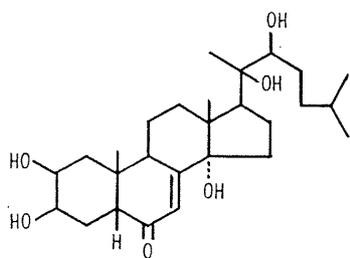
ホルモン活性物質名	抽出原料	生物検定昆虫
$\alpha$ -エクデイゾン(I)	カイコ	クロバエ
$\beta$ -エクデイゾン	カイコ	クロバエ
クラストエクダイソン	イセエビの1種	クロバエ
エクデステロン(II)	カイコ	クロバエ
THE-I	スズメガの1種	イエバエ
THE-II	スズメガの1種	イエバエ
イソイノコステロン (エクデステロン)	ヒナタイノコズチ	イエバエ, カイコ
イノコステロン(IV)	ヒナタイノコズチ	イエバエ, カイコ
ポナステロンA(III)	トガリバマキ	イエバエ, カイコ
ポナステロンB	トガリバマキ	イエバエ, カイコ
ポナステロンC	トガリバマキ	イエバエ, カイコ
ポナステロンD	トガリバマキ	クロバエ



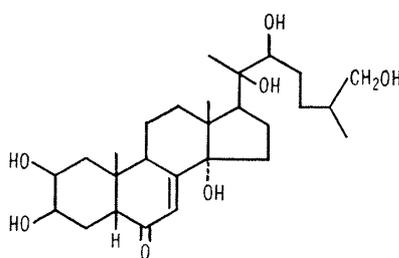
(I)



(II)



(III)



(IV)

れる。同じ頃、カイコ蛹からエクディゾンよりも極性が高く、またそれよりも3~5倍ホルモン活性の強い物質が単離され、エクディステロン (Ecdysterone) と名づけられた<sup>19)</sup>。

さらに Kaplanis ら<sup>26)</sup> はスズメガの1種の蛹から tobacco hornworm ecdysone (THE)-I と-II とを分離し、THE-I はクラストエクダイソン、THE-II は  $\alpha$ -エクディゾンにその特性が似ていることを明らかにし、種々の検討から  $\beta$ -エクディゾン、クラストエクダイソンおよび THE-I は同一物質ではないかとの見解を示し、エクディステロンと THE-I とはその分子量および生理活性が異なると述べたが、なお、追究されねばならぬ問題が残されている (第2表)。

ところで、日本では最近2つの研究室で相前後して植物から昆虫の脱皮ホルモン活性物質が単離された。その1つは中西ら<sup>33)</sup> により、トガリバマキから得られたもので、ポナステロン (ponasterone) A, B, C, D と名づけられた。また他の1つは竹本ら<sup>41)</sup> により、ヒナタイノコズチから単離され、イソイノコステロン (iso-inokosterone) およびイノコステロン (inokosterone) と名づけられ、前者はエクディステロンと同一物質であることが解明された。筆者らの行なつた生物検定では<sup>31,32)</sup>、イエバエ幼虫の分離腹部は 0.005 $\mu$ g のイソイノコステロンおよびポナステロンAの注射で蛹化し、他の物質にもその作用力に若干強弱はみられたが、いずれも強力な脱皮ホルモン作用を示した。これらの物質は高収率で植物から得られるため、今後これらを用いて生理化学面または応用面での研究が推進されるものと期待される。

#### 4. 脱皮ホルモンの作用機作

双翅目昆虫の外皮におけるチロジン代謝は終令幼虫の初期と後期では明らかに異なり、初期では外皮へ取り込まれたチロジンは外皮の硬化着色には関係のない P-ヒドロキシフェニールピルビン酸を経て P-ヒドロキシフェニールプロピオン酸となるが、後期になると、チロジン→ドパ→トパミン→N-アセチルドパミン→スクレロチンと代謝されて外皮の硬化着色が進み蛹殻皮が形成される。この代謝系に関与するフェノールオキシダーゼ系の酵素は元来外皮の中にプロエンザイムの形で存在しているが、エクディゾンによつてこれが活性化され、酵素としての働きを現わすという<sup>24)</sup>。

また双翅目昆虫の唾腺染色体にみられるパフは RNA 合成の場として知られ、メッセンジャー RNA はそこで造成されるといわれる。ある種の未知の機構によりエクディゾンはパフの形成を促し、メッセンジャー RNA の合成を開始させるが、このものが核膜孔を通つて蛋白合成の嚆型を作るリボソームへと移動し、外皮の硬化着色現象に重要な役割を果すドパデカルボキシラーゼ合成に関する情報を伝達すると説明されている<sup>22)</sup>。

一方、エクディゾンは核酸合成および蛋白合成に関与するばかりでなく、炭水化物代謝にも関係していることが筆者ら<sup>29,30)</sup> により明らかにされた。すなわち、カイコの永続蛹へ一定量のエクディゾンおよび 1-<sup>14</sup>C-グルコースまたは 6-<sup>14</sup>C-グルコースをそれぞれ注射し、標識化合物のトレハロース、グルコースへの移行を調べると、血液トレハロースへの標識化合物の移行はエクディゾンにより急速に進み、注射1時間後に最大値に達し、その後減少する。これに対してエクディゾンを注射しない対照区では時間の経過に伴つて次第

にその値が高くなる。また、脂肪組織のグリコゲンへの取り込みを見ると、対照区では注射直後に高い値を示し、その後減少するが、エクディゾン注射区では、その値は低く、経過に伴ってこれが若干増加するとはいえ、脂肪組織の放射能に対するグリコゲンのそれはほぼ一定の値で示された。この実験で、エクディゾンは脂肪組織におけるトレハロースとグリコゲンの生合成系に作用し、とくにトレハロース合成を促進することが知られた。同様な実験は、シンジュサンの除脳休眠蛹についても行なわれたが、呼出炭酸ガスへの標識グルコースの移行がエクディゾンにより増加したことはカイコの永続蛹では見られないことであり、両者の生理的な差異を現わしたのものとして興味深い。なお、ホルモン注射区も対照区も共に  $1\text{-C}^{14}$  の方が  $6\text{-}^{14}\text{C}$ -グルコースよりも常に多量に炭酸ガスへ移行することからこれらの昆虫の解糖系ではペントースホスフェイト回路がエムデンマイヤーホーフ経路よりも活潑であることが知られた。

つぎに昆虫体内における高級脂肪酸の組織間輸送が、セクロピアサンを用いて茅野ら<sup>10)</sup>により検討された。一般に昆虫においては高等動物と異なり、脂肪酸はディグリセライドとして移行するが、昆虫に  $^{14}\text{C}$ -パルミチン酸を注射すると、これが脂肪組織の中でトリグリセライドに変わり、さらに血液中へはデグリセライドとして放出される。この放出量は昆虫の発育時期により異なり、休眠覚醒蛹では休眠蛹の約10倍にも達するという。今のところこの蛹にみられる高級脂肪酸の輸送に直接ホルモンが関与しているか否か不明であるが、成虫分化との関連においてさらに検討が行なわれるものと思われる。

##### 5. 前胸腺刺激ホルモンの化学と作用機作

昆虫の前胸腺刺激ホルモン(脳ホルモン)はカイコ蛹の脳から1958年に筆者らによりはじめて抽出され、その活性物質の1つはステロイドで、他は蛋白反応をもつことが明らかにされた<sup>28)</sup>。

脳ホルモンの作用機作についてはいまだ多くのことが知られていないが、シンジュサン休眠蛹においてはコレステロールまたは蛋白性脳ホルモンの注射によりこの昆虫の酸素吸収量が増加する。さらにこの除脳休眠蛹へ標識グルコースを注射すると、そのほとんどが脂肪組織のグリコゲンへ移行するが、コレステロールまたは蛋白性脳ホルモンを注射した場合には前記の標識グルコースは脂肪組織においてトレハロースに合成され、血液中へ放出されることが解明された<sup>30)</sup>。また、カイコの吐糸開始直前の幼虫の頭胸間を結紮し、24時間後にコレステロールまたは蛋白性脳ホルモンを注射すると、外皮のRNA合成が高まることを明らかにした(小林ら、未発表)。しかしながらこれらの変化はエクディゾンによっても見られることから、脳ホルモンの直接作用としてはその標的器官である前胸腺について生化学的な研究が必要で、筆者らのもとで現在実験が進められている。

##### 6. 休眠ホルモンの化学と作用機作

昆虫の休眠を積極的に誘起するホルモンはニカメイチュウでは、アラタ体から分泌されるといわれる<sup>42)</sup>。しかし、この昆虫においてはアラタ体の活性が高い休眠幼虫では脳-前胸腺系のホルモン分泌が停止していることからこの作用は幼若ホルモンのいわゆる現状維持作用か、またはアラタ体から脳-前胸腺系の活動を抑止する化学物質が放出されるかは

さらに追究されねばならぬ問題と思われる。

ところが、カイコの胚(卵)休眠は蛹期において食道下神経節から分泌される休眠要因によつて誘導される。長谷川<sup>47)</sup>はカイコの脳—食道下神経節連合体からこのホルモン活性物質を抽出し、休眠ホルモンと名づけたが、いまだその詳細な化学的特性は報告されていない。カイコの不休眠卵産性蛹へこのホルモン抽出物を注射すると、この蛹が羽化後産下した卵の胚は休眠胚となり、胚発生が停止する。しかしながら、胚発生の項で述べたように、カイコの卵は休眠卵も不休眠卵も共に産下後約 24 時間は胚発生が進み、その後休眠性卵の胚のみが発生を停止する。この事実と休眠ホルモンの卵巣への作用が卵巣発育の特定期であること<sup>48)</sup>を考え合せると、産下後約 24 時間に見られる休眠卵内での代謝の切り換えにこのホルモンが如何なる経路を経て関与しているかは極めて興味深い問題である。

カイコの休眠ホルモンの作用機作に関しては長谷川・山下<sup>47)</sup>により研究され、休眠ホルモンの標的器官である卵巣へのグリコゲンの蓄積という興味深い事実の発見によつて進展した。すなわち、昆虫の血糖の主なものとはトレハロースであるが、休眠ホルモン抽出物を不休眠卵産性蛹へ注射すると、まず血液中のトレハロースが卵巣に取り込まれてグリコーゲンに合成される。一方、脂肪組織のグリコゲン量は休眠ホルモン注射により減少するが、これはトレハロースとして血液中へ出るため、これら一連の動きは休眠ホルモン注射によつて引金を引かれた卵巣における糖代謝に伴うフィードバックであると説明されている<sup>48)</sup>。また、カイコの卵巣および卵のトリプトファン系の色素であるオモクロームの前駆物質、3-ヒドロキシキノレン (3-OHK) 量は休眠ホルモン抽出物の注射により増加することが明らかにされた<sup>46,49)</sup>この色素はカイコ卵では、休眠卵のみに見られ、不休眠卵には見られないが休眠ホルモンが卵巣への 3-OHK の透過、蓄積またはその合成を支配するという機構の詳細は今後の研究に待たれる。

#### ま と め

昆虫変態の生化学をホルモンを中心にして述べてきたが、限られた紙面にその全容を盛り込むことができず、断片的な記載に終らざるを得なかつた。しかしながら昆虫生化学の特徴は、これまでに解明された昆虫の形態学的または生理学的な特異性をさらに動的な化学的手段によつてとらえようとするもので、各種の化学的方法の駆使できる現在では、この分野の研究の推移には目覚ましいものがあると同時に魅力のある昆虫学の若い一分科であるといえよう。

この分野の研究は日本においては主として生物学者により進められてきたが、今後はさらに広汎な領域の研究の協力により、大きく飛躍することが期待され、また若いエネルギーの参加が熱望される。

#### 文 献

1. Bowers, W. S., Thompson, M. J. and E. C. Uebel 1965. Juvenile and gonadotropic hormone activity of 10, 11-epoxyfarnesenic acid methyl ester. *Life Sci.* 4: 2323-2331.

2. Bowers, W. S., Fales, H. M., Thompson, M. J. and E. C. Uebel 1966. Juvenile hormone : Identification of an active compound from Balsam fir. *Science* 154 : 1020-1022.
3. Butenandt, A. and P. Karlson 1954. Über die Isolierung eines Metamorphose-Hormons der Insekten in kristallisierter Form. *Z. Naturforschg.* 9b : 389-391.
4. Chen, D. H., Robbins, W. E. and R. E. Monroe 1962. The gonadotropic action of *Cecropia* extracts in allatectomized American cockroaches. *Experimentia* 18 : 1-4.
5. Chino, H. 1957. Carbohydrate metabolism in diapause egg of the silkworm, *Bombyx mori*. I. Diapause and the change of glycogen content. *Embryologia* 3 : 295-316.
6. — 1957. Conversion of glycogen to sorbitol and glycerol in the diapause egg of the *Bombyx* silkworm. *Nature* 180 : 606-607.
7. — 1958. Carbohydrate metabolism in the diapause egg of the silkworm, *Bombyx mori*-II. Conversion of glycogen into sorbitol and glycerol during diapause. *J. Insect Physiol.* 2 : 1-12.
8. — 1960. Enzymatic pathways in the formation of sorbitol and glycerol in the diapausing egg of the silkworm, *Bombyx mori*-I. On the polyol dehydrogenase. *J. Insect Physiol.* 5 : 1-15.
9. — 1963. Respiratory enzyme system of the *Bombyx* silkworm egg in relation to the mechanism of the formation of sugar alcohols. *Arch. Biochem. Biophys.* 102 : 400-415.
10. — and L. I. Gilbert 1965. Lipid release and transport in insects. *Biochem. Biophys. Acta* 98 : 94-110.
11. Clarke, K. U. and R. W. Baldwin 1960. The effect of insect hormones and of 2 : 4-dinitrophenol on the mitochondrion of *Locusta migratoria* L. *J. Insect Physiol.* 5 : 37-46.
12. Emmerich, H., Zahn, A. and P. Schmialek 1965. Über die Aktivität einiger Dehydrogenasen und Transaminasen bei *Tenebrio molitor* unter dem Einfluss von Farnesylmethyläther. *J. Insect Physiol.* 11 : 1161-1168.
13. Gilbert, L. I. and H. A. Schneiderman 1960. The development of a bioassay for the juvenile hormone of insects. *Trans. Am. Microscop. Soc.* 79 : 38-67.
14. — — 1961. Some biochemical aspects of insect metamorphosis. *Am. Zool.* 1 : 11-51.
15. Gilmour, D. 1961. *The Biochemistry of Insects*. Acad. Press, New York.
16. Hampshire, F. and D. H. Horn 1966. Structure of crustecdysone, a crustacean moulting hormone. *Chem. Comm.* 37-38.
17. Hasegawa, K. 1957. The diapause hormone of the silkworm, *Bombyx mori*. *Nature* 179 : 1300-1301.
18. — and O. Yamashita 1965. Studies on the mode of action of the diapause hormone in the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Exp. Biol.* 43 : 271-277.
19. Hoffmeister, H. 1966. Ecdysterone, ein neues Häutungshormon der Insekten. *Angew. Chem.* 78 : 269-270.
20. Huber, R. and W. Hope 1965. Zur Chemie des Ecdysons, VII. Die Kristall-

- und Molekülstrukturanalyse des Insekten-verpuppungshormons Ecdyson mit der automatisierten Faltmolekülmethode. Chem. Ber. 98 : 2403-2424.
21. Karlson, P. 1956. Biochemical studies on insect hormones. Vit. Hor. 15 : 227 to 266.
  22. — 1965. Biochemical studies of ecdysone control of chromosomal activity. J. Cell. Comp. Physiol. 66 : 69-76.
  23. — 1965. Mechanisms of Hormone Action. Acad. Press, New York.
  24. — and C. E. Sekeris 1962. N-Acetyl-dopamine as sclerotizing agent of the insect cuticle. Nature 195 : 183-184.
  25. — and D. M. Skinner 1960. Attempted extraction of crustacean moulting hormone from isolated Y-organs. Nature 185 : 543-544.
  26. Kaplanis, J. N., Thompson, M. J., Yamamoto, R. T., Robbins, W. E. and S. J. Louloudes 1966. Ecdysones from the pupa of the tobacco hornworm, *Manduca sexta* (Johannson). Steroids 8 : 605-623.
  27. Kerb, U., Hocks, P. and R. Wiechert 1966. Die synthese des Ecdysons. Tetrahedron Letters 1387-1391.
  28. Kobayashi, M. and M. Yamazaki 1966. The Proteinic brain hormone in an insect, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera : Bombycidae). Appl. Ent. Zool. 1 : 53-60.
  29. — and S. Kimura 1967. Action of ecdysone on the conversion of <sup>14</sup>C-glucose in dauer pupae of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Insect Physiol. 13 : 545-552.
  30. — — and M. Yamazaki 1967. Action of insect hormones on the fate of <sup>14</sup>C-glucose in the diapausing, brainless pupa of *Samia cynthia pryeri* (Lepidoptera : Saturniidae). Appl. Ent. Zool. 2 : 79-84.
  31. — Nakanishi, K. and M. Koreeda 1967. The moulting hormone activity of ponasterones on *Musca domestica* (Diptera) and *Bombyx mori* (Lepidoptera). Steroids 9 : 529-536.
  32. — Takemoto, T., Ogawa, S. and N. Nishimoto 1967. The moulting hormone activity of ecdysterone and inokosterone isolated from *Achyranthis Radix*. J. Insect Physiol. (in press).
  33. Nakanishi, K., Koreeda, M., Sasaki, S., Chang, M. L. and H. Y. Hsu 1966. The structure of ponasterone A, an insect-moulting hormone from the leaves of *Podocarpus nakaii* Hay. Chem. Comm. 915-917.
  34. Oberlander, H. and H. A. Schneiderman 1966. Juvenile hormone and RNA synthesis in pupal tissues of Saturniid moths. J. Insect Physiol. 12 : 37-41.
  35. Pappenheimer, A. M. and C. M. Williams 1953. The properties of cytochrome E in the *Cecropia* silkworm. Anat. Rec. 117 : 543.
  36. Randall, D. D. and R. F. Derr 1965. Trehalose : Occurrence and relation to egg diapause and active transport in the differential grasshopper, *Melanoplus differentialia*. J. Insect Physiol. 11 : 329-335.
  37. Röller, H., Bjerke, J. S. and W. H. McShan 1965. The juvenile hormone - I. Methods of purification and isolation. J. Insect Physiol. 11 : 1185-1197.
  38. Schmialek, P. 1961. Die Identifizierung zweier im Tenebriokot und in Hefe vorkommender Substanzen mit Juvenilhormonwirkung. Z. Naturforschg.

- 16b : 461-464.
39. Schneiderman, H. A. and C. M. Williams 1954. The physiology of insect diapause. VIII. Qualitative changes in the metabolism of the *Cecropia* silkworm during diapause and development. *Biol. Bull.* 106 : 210-229.
  40. Siddall, J. B., Cross, A. D. and J. H. Fried 1966. Synthetic studies on insect hormones II. The synthesis of ecdysone. *J. Am. Chem. Soc.* 88 : 862-863.
  41. 竹本常松・小川俊太郎・西本喜重 1967. 牛膝より昆虫変態ホルモンの単離. *日本薬学雑誌* 8 : 325-327.
  42. Fukaya, M. and J. Mitsuhashi 1961. Larval diapause in the rice stem borer with special reference to its hormonal mechanism. *Bull. Nat. Inst. Agr. Sci. ser. C*, 13 : 1-32.
  43. Vroman, H. E., Kaplanis, J. N. and W. E. Robbins 1965. Effect of allatectomy on lipid biosynthesis and turnover in the female american cockroach, *Periplaneta americana* (L.). *J. Insect Physiol.* 11 : 897-904.
  44. Williams, C. M. 1956. The juvenile hormone of insects. *Nature* 178 : 212-213.
  45. — and J. H. Law 1965. The juvenile hormone-IV. Its extraction, assay, and purification. *J. Insect Physiol.* 11 : 569-580.
  46. 山下興亜・長谷川金作 1964. 家蚕の休眠ホルモンの作用機構に関する研究 III. 休眠ホルモンの卵巣の 3-Hydroxy-Kynurenine 量に及ぼす影響. *日蚕雑* 33 : 115-123.
  47. —・— 1964. 家蚕の休眠ホルモンの作用機構に関する研究 (IV). 休眠ホルモンの卵巣のグリコーゲン量および血糖量に及ぼす作用. *日蚕雑* 33 : 407-416.
  48. Yamashita, O. and K. Hasegawa 1966. The response of the pupal ovaries of the silkworm to the diapause hormone with special reference to their physiological age. *J. Insect Physiol.* 12 : 325-330.
  49. —・— 1966. Further studies on the mode of action of the diapause hormone in the silkworm, *Bombyx mori* L. *J. Insect Physiol.* 12 : 957-962.
  - 補1. Röller, H., Dahm, K. H., Sweeley, C. C. and B. M. Trost 1967. Die Struktur des Juvenilhormons. *Angew. Chem.* 79 : 190-191.