

## 작잠(*Antheraea pernyi*) arylphorin의 항체를 이용한 수종의 나비목 야생 견사곤충들 간의 면역학적 비교

박남숙 · 김미애 · 박현철 · 김근기 · 진병래<sup>1</sup> · 이상몽\*

부산대학교 생명자원과학대학 생명환경화학과, <sup>1</sup>동아대학교 생명자원과학대학 응용생명공학과

Received February 27, 2008 / Accepted March 21, 2008

**Comparison of Arylphorin of *Antheraea pernyi* with Those of Several Lepidopteran Wild Silkmoths by Western Blot Analysis.** Nam Sook Park, Mi Ae Kim, Hyun Chul Park, Keun Ki Kim, Byung Rae Jin<sup>1</sup> and Sang Mong Lee\*. Dept. of Life Science & Environmental Biochemistry, Collage of Natural Resources & Life Science, Pusan National University, Samryangjin, Miryang 627-703, Korea, <sup>1</sup>College of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Busan 604-714, Korea - The occurrences of proteins relating to *Antheraea pernyi* arylphorin in haemolymph, fat body, integument, midgut and silk gland of the wild silkmoths, *Antheraea yamamai*, *Antheraea pernyi*, *Samia cynthia pryeri* and *Actias gnoma* in the 5th larval instar were investigated by immunoblot analysis using mouse polyclonal antibody against *A. pernyi* arylphorin as probe. In *A. yamamai*, *A. pernyi*, *S. cynthia pryeri* and *A. gnoma*, the major immunoreactive antigenic proteins with a molecular weight of 80 KDa against the antisera of the *A. pernyi* arylphorin were clearly observed in the haemolymph, but in the integument, fat body, midgut and silk gland of the corresponding wild silkmoths the presence of the immunoreactive proteins were very variable. These results suggest that the *A. pernyi* arylphorin has almost same immunological identity with those of the wild silkmoths, *A. yamamai*, *S. cynthia pryeri* and *A. gnoma* though the distribution of the corresponding antigenic arylphorins is different according to the tissues of the wild silkmoths.

**Key words :** Arylphorin, *Antheraea pernyi*, wild silkmoth, immunoblot analysis

### 서 론

Arylphorin은 여러 종류의 곤충 특히 나비목 곤충에서 주로 발견되는 혈림프 단백질로서 그 아미노산 조성 중 phenylalanine 과 tyrosine으로 대표되는 방향족 아미노산(aromatic amino acid)의 성분비 합이 18~26%를 차지하는 저장단백질의 하나이다[3,9,13,14,20]. 이러한 나비목곤충의 저장단백질은 대부분 중량유충의 지방체에서 합성되어 혈림프로 방출된 후 번데기화를 전후하여 본래 자기가 합성된 지방체로 재흡수되어 성충화에 쓰이게 될 필수단백질 입자로 저장되기 때문에 "저장단백질"이라 부르며, 이의 범주에는 매우 잘 연구된 상기의 arylphorin, methionine 함량이 4~8%로 비교적 높은 methionine-rich storage protein, aromatic amino acid 함량이 비교적 높지만 면역학적으로 arylphorin과 다른 homohexamer storage protein이 이에 속한다[1,12,18,19,21].

이와 같이 저장단백질의 일종인 arylphorin은 누에(*Bombyx mori*), 담배나방(*Manduca sexta*), 메뚜기(*Locusta migratoria*) 등 수많은 곤충에서 연구되어 지고 있다[2,3,9,13,20,22]. 한편, 본 연구팀은 나비목곤충으로 산누에나방과에 속하는 야생견사곤충인 천잠(*Antheraea yamamai*), 작잠(*Antheraea pernyi*), 가중

나무 산누에나방(*Samia cynthia pryeri*), 옥색긴꼬리 산누에나방(*Actias gnoma*)에 대한 생태, 형태, 생리 및 산업화에 대해 연구하여 왔다[5,8,10,16,23]. 또한 arylphorin에 대한 연구로 작잠 arylphorin을 순수분리하여 그 생화학적 특성을 밝혔고 천잠(*Antheraea yamamai*)과는 면역학적으로 유사성이 있으며 가잠(*Bombyx mori*) 및 멧누에(*Bombyx mandarina*)와는 면역반응을 보이지 않음도 밝혔고, 작잠 arylphorin 유전자를 cloning하여 그 염기서열을 GenBank에 등록(Access No: AY 278025; 2003)하였고, 또한 arylphorin에 결합된 N-glycan의 구조도 밝혀 관련 학술지에 보고하였다[4,6,8,10]. 그러나 나비목 곤충으로서 실크 산업과도 밀접한 관련이 있는 작잠의 저장단백질인 arylphorin을 사용하여 천잠(*A. yamamai*), 가중나무 산누에나방(*S. cynthia pryeri*) 및 옥색긴꼬리 산누에나방(*A. gnoma*)간의 면역학적 상동성 비교연구는 전무하다. 그러므로 본 연구는 기초생리연구의 일환으로 작잠 arylphorin 항체를 사용하여 수종의 야생견사곤충 간에 arylphorin 유전자의 산물인 arylphorin의 면역학적 중간 유사성을 검토하여 arylphorin의 계통발생경로를 해석하는데 극히 일부뿐이나마 기여하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 공시곤충

본 실험에 공시한 곤충은 작잠(*A. pernyi*), 천잠(*A. yamamai*),

#### \*Corresponding author

Tel : +82-55-350-5546, Fax : +82-55-350-5549

E-mail : serilsm@pusan.ac.kr

가중나무 산누에나방(*S. cynthia pryeri*) 및 옥색긴꼬리 산누에나방(*A. gnoma*)이었으며 천잠과 작잠은 실내 사육한 것을 사용하였다. 가중나무 산누에나방 및 옥색긴꼬리 산누에나방은 야생의 것을 채집(가중나무 산누에나방: 밀양에서 채집(2001년), 옥색긴꼬리 산누에나방: 경기도 수원에서 채집(2001년)한 것을 실내 사육하여 해당 발육시기별로 시료채취에 사용하였다.

**곤충 사육**

천잠 및 작잠은 부화 후 1령부터 5령까지 상법에 따라 사육하였으며 사료는 야생의 신선한 참나무잎(*Quercus acutissima*)을 사용하였다. 사육온도는 1~3령기는 온도 23~26°C, 습도 80~90% R.H., 4~5령은 20~23°C, 습도 75~80% R.H. 하에서 사육하였고 광주기는 계절의 자연광주기에 준하였다. 옥색긴꼬리 산누에나방의 사육은 Ryu 등[16]의 방법에 준하였으며 사육용 사료는 참나무잎(*Q. acutissima*)을 사용하였다.

**혈림프 채취 및 조직 샘플 채취**

공시된 4종의 곤충 혈림프액 채취는 4종의 곤충에 대해 다 같이 예냉시킨 에펜돌프회사의 1.5 ml 튜브에 혈림프액의 흑화(黑化: melanosis)를 방지하기 위해 소량의 phenylthiourea 분말을 첨가하여 5령 유충의 꼬리발 또는 배발을 해부용 가위로 상처를 내어 채혈하였으며 채혈 후 혈구 및 기타 고형 불순물을 제거하기 위해 15,000 rpm에서 15분간 저온 원심분리하였다. 원심분리가 끝난 후 상등액을 취하여 사용시까지 -20°C에 냉동 보관하였다. 또한 4종의 곤충의 피부, 지방체, 중장 및 실샘조직 채취는 5령 중기의 유충을 해부하여 해당 조직을 취한 후 차가운 PBS (Phosphate Buffered Saline, pH 7.5)용액에서 혈액 및 불순물 제거를 위해 수회 씻은 후 Whatman filter paper No. 1로 수분을 제거한 후 조직별 공히 5배액(v/w)의 PBS 용액을 첨가, 유리 균질기로 조직을 마쇄하였다. 마쇄된 조직액은 15,000 rpm에서 15분간 2~3회 저온 원심 분리하여 상등액을 취하여 1.5 ml 에펜돌프튜브에 분주한 후 -20°C에 사용 시까지 냉동 보관하였다.

**SDS-PAGE 전기영동 및 젤 내 단백질 밴드의 Nitrocellulose membrane에의 transfer**

SDS-PAGE (sodium dodescylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis)는 원칙적으로 Laemmli [7]방법에 준하여 행하였다. 젤 농도는 0.1% SDS를 포함한 11%였다. 젤 속의 단백질 밴드는 전기영동적으로 NC membrane에 transfer하였으며, 이것을 Western blot 분석에 사용하였다.

**항혈청 제작**

순수하게 분리·정제된 작잠 arylphorin [10]을 사용, New Zealand white male rabbit에 complete Freund's adjuvant로 현탁한 것을 1주 간격으로 1 ml씩 4회 피하주사한 후 5주째,

토끼의 귀 정맥으로부터 10 ml시험관에 토끼 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액은 4°C에서 하룻밤 균질화 한 후 15,000 rpm에서 15분간 4°C에서 저온 원심 분리하여 상등액을 항 혈청액으로 취하였다. 채취한 상등액은 1.5 ml에 분주하여 사용 시까지 -20°C에 냉동 보관하였다.

**Western blot 분석**

Western blot 분석은 시약공급회사의 안내서(Amplified Alkaline phosphatase Goat anti-Rabbit Immun-Blot Assay Kit Bio-Rad Co.)에 준하여 행하였으며 11% SDS-PAGE 및 단백질의 transfer가 끝난 N.C. filter를 5% non-fat dry milk with 20 mM Tris, 500 mM NaCl, 0.05% Tween-20 (pH 7.5)에 1시간 동안 실온에서 침지하였다. blocking 액으로 2회 씻은 후 실온에서 1시간 동안 1차 항체, incubation을 행한 후 다시 2차 항체 반응도 같은 방법으로 행하였다. N.C. filter는 실온에서 1시간 동안 미리 준비한 streptavidin-biotinylated alkaline phosphatase 혼합액에 반응한 후 안내서에 따라 발색반응을 행하였다.

**결과 및 고찰**

작잠 5령 유충 arylphorin 항 혈청에 대한 작잠 5령 유충의 혈액, 피부, 지방체, 중장 및 실샘의 추출단백질과의 면역반응 결과는 Fig. 1과 같다. 혈림프(HM), 피부(IN), 지방체(FB) 및 중장(MG)조직 추출액과는 면역반응밴드가 나타났으나 실샘(SG)과는 반응밴드가 나타나지 않았다. 항원-항체 반응이 나타난 혈림프, 피부, 지방체 및 중장조직 중 체액에서 가장 굵고 진한 면역반응밴드가 출현하였다. 이상의 결과에서 혈림프에

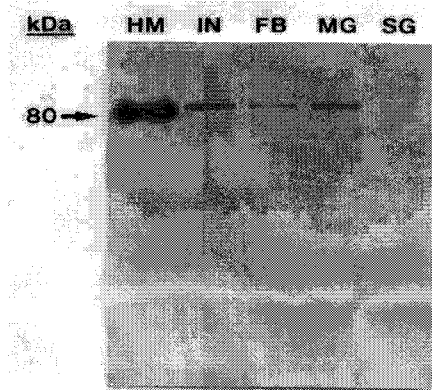


Fig. 1. Western blot analysis of various larval tissue homogenates of *A. pernyi* using a polyclonal antibody raised against arylphorin (80 kDa) purified from the pupal haemolymph of the wild silkworm, *A. pernyi*. Haemolymph (HM) and individual homogenates from integument (IN), fat body (FB), midgut (MG), and silk gland (SG) were subjected to 10% SDS-PAGE. The proteins in the gel were electrotransferred to nitrocellulose membrane and then probed with the anti-*A. pernyi* arylphorin.

서는 arylphorin이 지방체로부터 방출되어 상당량이 일시 저장된 상태이므로 그 밴드의 굵기와 농도가 최고이며 가장 선명하게 면역반응 밴드가 검출되었고, 지방체는 arylphorin을 합성하는 장소이므로 항-arylphorin 혈청과 면역반응이 일어난 것으로 생각된다. 또 피부 및 증장에서 면역반응밴드가 나타난 것은 arylphorin이 곤충 피부구성 물질이며[18], 증장의 조직 형성에도 기여하기 때문으로 생각된다. 그러나 실샘 추출물에서 면역반응이 나타나지 않는 이유는 작잠 arylphorin이 지방체에서 합성되어 혈림프를 방출, 이 혈림프가 실샘과 직접 접촉을 하지만 실샘으로 전이되지 않는 것은 실샘이 arylphorin의 target cell이 아니기 때문으로 보여지나 작잠의 실샘 발육기간이 매우 길므로 발육시기 의존성 또는 다른 검정 방법의 사용등도 한번 검토하여야 할 사항으로 생각된다.

작잠 5령 유충 arylphorin 항 혈청에 대한 천잠 5령 유충의 혈림프, 피부, 지방체 및 실샘 조직 추출액과의 면역반응 결과는 Fig. 2와 같다. 천잠의 공시조직 중 혈림프와는 전술한 작잠 혈림프에서와 같이 가장 강력한 면역반응이 일어났으나 피부, 증장과는 상대적으로 약한 면역반응밴드가 80 kDa 위치에서 나타났다. 그러나 실샘에서는 전혀 면역반응이 나타나지 않았고 합성장소인 지방체에서도 무시해도 좋을 정도의 흔적 정도만 밴드가 검출된 것은 그 이유를 정확히 알기 어렵다. 이상의 결과에서 작잠 arylphorin 항혈청에 대해 같은 과(family) 및 같은 속(genus)의 천잠의 arylphorin은 혈림프, 피부, 증장에서만 동일한 분자량 위치 80 kDa에서 면역반응이 일어났음을 알 수 있다. 그러나 천잠과 작잠은 분류학상 속명은 *Antheraea*로 같지만 종명은 *yamamai* 및 *pernyi*로 서로 달라 다른 종(species)이다. 그러나 면역학적으로 볼 때 양 종간의 arylphorin은 서로 유사한 면역적 특성을 가진 것으로 사료된다.

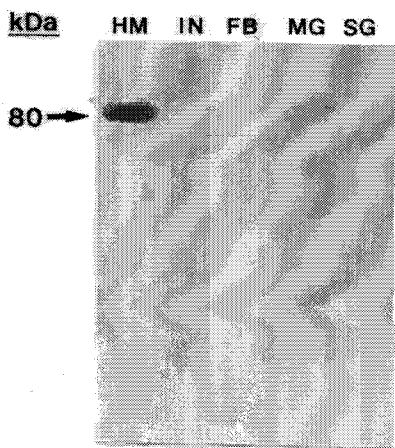


Fig. 2. Western blot analysis of various larval tissue homogenates of *A. yamamai* using a polyclonal antibody raised against arylphorin (80 kDa) purified from the pupal haemolymph of the wild silkworm, *A. pernyi*. See Fig. 1 for further legends.

가중나무 산누에나방의 5령 유충의 각 조직별 작잠 arylphorin 항 혈청에 대한 면역반응은 Fig. 3과 같다. 가중나무 산누에나방의 체액, 피부, 지방체에서는 80 kDa 위치의 단백질밴드에서 면역반응이 명확히 나타났으며 특히 체액에서 가장 강하게 나타났다. 증장(MG)에서는 흔적 정도의 반응밴드가 보였으나 실샘(SG)에서는 흔적조차 보이지 않았다. 가중나무 산누에나방은 산누에나방과로 작잠과는 같은 과이지만 속 및 종이 전혀 다르다. 그러나 arylphorin이라는 단백질을 면역학적 측면에서 보면 속과 종이 서로 다르지만 서로 동일한 arylphorin 항원을 소유하고 있는 것으로 사료된다.

옥색긴꼬리 산누에나방 5령 유충의 각 조직별 작잠 ar-

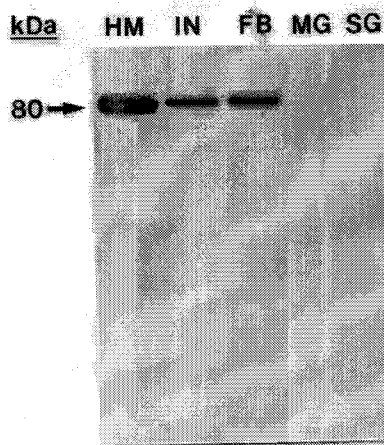


Fig. 3. Western blot analysis of various larval tissue homogenates of *S. Cynthia pryeri* using a polyclonal antibody raised against arylphorin (80 kDa) purified from the pupal haemolymph of the wild silkworm, *A. pernyi*. See Fig. 1 for further legends.

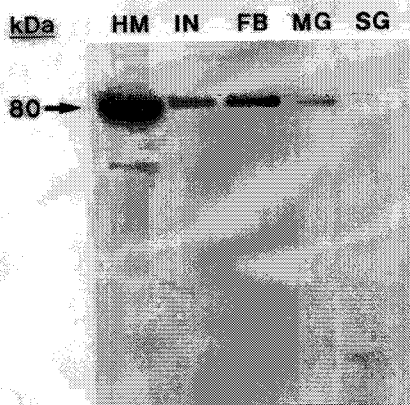


Fig. 4. Western blot analysis of various larval tissue homogenates of *A. gnoma* using a polyclonal antibody raised against arylphorin (80 kDa) purified from the pupal haemolymph of the wild silkworm, *A. pernyi*. See Fig. 1 for further legends.

Table 1. Immunochemical comparison of the arylphorin of *A. pernyi* with those in the various tissues of the wild silkworms, *A. yamamai*, *S. cynthia pryeri*, and *A. gnoma*

Species	Tissues	Haemolymph	Integument	Fat body	Mid gut	Silk gland
<i>A. pernyi</i>		+++	++	+	++	-
<i>A. yamamai</i>		+++	+	-	+	-
<i>S. cynthia pryeri</i>		+++	++	++	(-)	-
<i>A. gnoma</i>		+++	++	++	+	(-)

\* The strength of immunoreactive signal : +++, strong ; ++, medium; +, normal; (-), trace; -, non-detected.

ylphorin 항 혈청에 대한 면역반응 결과는 Fig. 4와 같다. 옥색 긴꼬리 산누에나방 5령 유충의 체액에서 적어도 2개(80 kDa 및 40 kDa)의 면역반응 밴드가, 피부, 지방체, 중장에서는 80 kDa 위치에 1개의 뚜렷한 면역 반응밴드가, 실샘에서도 80 kDa 위치에 다소 희미한 1개의 면역 반응밴드가 나타났다. 이들 면역반응 단백질 밴드 중 전술의 공시곤충의 결과와 동일하게 혈림프에서 가장 강력한 면역반응이 일어났으며, 피부, 지방체, 중장에서는 확실하게, 실샘에서는 혼적정도의 반응밴드가 검출되어 공시한 5개 조직 모두에서 면역반응이 일어났다. 그 강도는 체액>지방체>피부>중장>실샘이었으며 특히 혈액에는 2개 이상의 면역반응밴드가 관찰된 것이 특징적이었다.

이상의 Fig. 1, 2, 3, 4의 결과를 요약하여 Table 1에 나타냈다. 4종의 인시목 곤충 모두 작잠 arylphorin 항 혈청에 대한 공통 항원을 가지고 있으며, 그 항원은 혈액, 피부, 지방체, 중장 등에 널리 분포하고 있고 때로는 실샘에도 분포될 수 있음을 나타내고 있다. 이것은 곧 동일한 조상단백질 유전자로부터 유래한 단백질을 시사하며 해당단백질의 기능이 서로 공통성이 있음을 말해주는 것이다. 속·종이 다르지만 동일한 기원을 가진 항원단백질이 있으며 이는 관련 곤충의 생화학적·면역학적 관점의 계통분류 및 기능해석에 이용 가능할 것으로 사료된다.

결론적으로 본 실험 결과에서 4개 종의 나비목곤충에서 작잠 arylphorin의 항체와 공통항원성을 가지는 저장단백질이 존재하며, 분포장소는 혈림프, 지방체, 피부, 중장, 실샘 등으로 종간에 다소의 차이는 있음을 확인하였다. 금후 이들 유전자를 각각 클로닝하여 유전자의 분자적 특성을 밝히고 유전자의 산물인 arylphorin의 기능상의 특이성 등을 밝힐 것이다.

### 요 약

작잠 arylphorin 항 혈청을 사용하여 천잠, 가중나무 산누에나방 및 옥색긴꼬리 산누에나방의 5령 유충의 혈림프, 피부, 지방체, 중장 및 실샘에 대한 종(species) 공통항원의 존재 여부를 비교·검토하였다. 4개종은 혈림프, 피부, 지방체, 중장 실샘 등 종별 조직에 따라 다소간 검출유무의 차이는 있으나 작잠 arylphorin 항 혈청에 대한 공통항원의 존재는 4종의 야생곤충 모두에서 확인되었으며, 특히 혈림프에서 가장 강력한

항원-항체 반응이 관찰되었다. 이상의 결과에서 *A. pernyi* arylphorin은 천잠 등 4개의 공시곤충들의 공통 조상유전자로부터 유래한 단백질일 가능성이 높은 것으로 사료된다.

### 감사의 글

본 논문은 부산대학교 2006년 자유과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었음.

### References

1. Bean, D. W. and D. L. Silhack. 1989. Changes in titer of the female-predominant storage protein (81k) during larval and pupal development of the wax moth, *Galleria mellonella*. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* **10**, 333-348.
2. DeKort, C. A. D. and A. B. Koopmanschap. 1987. Isolation and characterization of a larval hemolymph protein in *Locusta migratoria*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **4**, 191-203.
3. Haunerland, N. H. and W. S. Bowers. 1986. Arylphorin from the corn earworm. *Heliothis zea*. *Insect Biochem.* **16**, 617-625.
4. Hwang, J. S., J. S. Lee, T. W. Goo, S. M. Lee and O. Y. Kwon. 1999. Comparative analysis of nucleotide sequence and codon usage of arylphorin gene cloned from four silk-producing insects and their molecular phylogenetics. *J. Life Science* **9**, 84-89.
5. Kim, B. Y., Y. W. Choi, N. S. Park and S. M. Lee. 2001. Collection and characteristics of the wild silkworm, *Samia cynthia pryeri*, in Korea. *Int. J. Indust. Entomol.* **3**, 101-103.
6. Kim, S. H., S. K. Hwang, R. A. Dwek, P. M. Rudd, Y. H. Ahn, E. H. Kim, C. J. Cheong, S. I. Kim,, N. S. Park and S. M. Lee. 2003. Structural determination of the N-glycans of a lepidopteran arylphorin reveals the presence of a monoglucosylated oligosaccharide in the storage protein. *Glycobiology* **13**, 147-157.
7. Laemmli, U. K. 1970. Cleavage off structure during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**, 680-685.
8. Park, N. S., S. M. Lee, J. Y. Moon and S. I. Seong. 1999. Purification and partial characterization of the storage protein-like protein from the 5th Instar larval haemolymph of the Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi*. *Korean J. Seric. Sci.* **41**, 75-81.
9. Palli, S. R. and M. Locke. 1987. Purification and character-

- ization of three major hemolymph proteins of an insect *Calpodus ethlius* (Lepidoptera, Hesperidae). *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **5**, 233-244.
10. Park, N. S. 2001. Purification and characterization of arylphorin from larval Hemolymph of the Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi*. Thesis for the Degree of Master of Science. Miryang National University.
  11. Park, S. B., J. W. Kim, S. H. Kim, N. S. Park, B. R. Jin, J. S. Hwang, S. I. Seong, B. H. Lee, E. J. Park and S. M. Lee. 2003. Purification and characterization of arylphorin of the chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi*. *Int. Indust. Entomol.* **6**, 33-44.
  12. Roberts. D. B. 1983. The evolution of larval serum protein genes in *Drosophila*, pp. 86-101, In Scheller, K. (ed.), *The Larval Serum Proteins of Insects* Thieme, Stuttgart.
  13. Ryan, R. O., J. O. Schmidt and J. H. Law. 1984. Arylphorin from the haemolymph of the larval honeybee, *Apis mellifera*. *Insect Biochem.* **14**, 515-520.
  14. Ryan, R. O., D. R. Anderson. W. J. Grimes and J. H. Law. 1985. Arylphorin from *Manduca sexta*; carbohydrate structure and immunological studies. *Arch. Biochem. Biophys.* **243**, 115-124.
  15. Ryan. R. O., S. V. Prasad, E. J. Henriksen, M. A. Wells and J. H. Law. 1986. Lipoprotein interconversions in an insect, *Manduca sexta*. Evidence for a lipid transfer factor in the hemolymph. *J. Biol. Chem.* **261**, 563-568.
  16. Ryu, C. W., M. A. Kim, N. S. Park, H. D. Sohn, S. B. Park, H. O. Lee, J. Y. Moon, S. I. Seong and S. M. Lee. 2002. Developmental and morphological characterization of the wild silkworm, *Actias gnoma*, in Korea. *Int. J. Indust. Entomol.* **5**, 79-83.
  17. Scheller, K., H. P. Zimmerman and C. E. Sekeris. 1980. Calliphorin, a protein involved in cuticle formation of the blowfly, *Calliphora vicina*. *Z. Naturforsch.* **35**, 387-389.
  18. Sekeris, C. E. and K. M. Scheller. 1977. Calliphorin, a protein of the blowfly; correlation between the amount of protein, its biosynthesis, and the titer of translatable calliphorin-mRNA during development. *Dev. Biol.* **59**, 12-23.
  19. Telfer, W. H. and H. C. Jr. Massey. 1987. A storage hexamer from *Hyalophora* that binds riboflavin and resembles the apoprotein of hemocyanin, pp. 305-314, In Law, J. H. (ed.), *Molecular Entomology*, Alar, R. Liss, New York.
  20. Telfer, W. H., P. S. Keim and J. H. Law. 1983. Arylphorin, a new protein from *Hyalophora cecropia* : Comparisons with calliphorin and manducin. *Insect Biochem.* **13**, 301-613.
  21. Tojo, S., T. Betchaku, V. J. Ziccardi and G. R. Wyatt. 1978. Fat body protein granules and storage proteins in the silkworm, *Hyalophora cecropia*, *J. Cell Biol.* **78**, 823-838.
  22. Tojo, S., M. Nagata and M. Kobayashi. 1980. Storage proteins in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochem.* **10**, 289-303.
  23. Yoon, H. J., P. D. Kang, S. M. Lee, S. E. Kim and K. Y. Kim. 2007. Improvement of occasional artificial hatching and incubation method in diapause egg of the wild silkworm, *Antheraea yamamai*. *Korean J. Appl. Entomol.* **46**, 295-302.