

누에 번데기시기의 체액 Esterase 동위효소의 경시적 변화

문재유 · 이상몽*

서울대학교 농업생명과학대학 천연섬유학과, *잠업 시험장

Changes of the Haemolymph Esterase Zymograms during Pupal Development of the Silkworm, *Bombyx mori*

Jae Yoo Moon and Sang Mong Lee

Department of Natural Fiber Science, College of Agriculture & Life Science, Seoul National University, Suwon, Korea

*Sericultural Experiment Station, RDA, Suwon, Korea

서 론

동위효소의 다형성(多型性; polymorphism)은 곤충, 식물, 가금, 쥐, 물고기, 인간 등 여러 종류의 동식물에 있어서 유전적 변이, 계통 또는 집단간의 유연관계, 진화 등을 연구하는데 주로 이용되어져 왔다(Harris, 1966; Hubby and Lewontin, 1966; Hubby and Narise, 1967; Selander and Yang, 1969; Hashiguchi *et al.*, 1970; Ayala *et al.*, 1972; Yamamoto, 1975; Curry, 1976; Narang *et al.*, 1976; Purdom *et al.*, 1976; 平野, 1977; 長戸, 1979; Minezawa *et al.*, 1981).

한편 누에에 있어서도 수종의 동위효소의 다형성은 계통뿐 아니라 조직, 발육단계에 따라서도 변이가 많고 이들 결과는 유전변이 검정, 유연관계 추정, 진화등의 연구에 응용되어져 왔다(Eguchi and Sugimoto, 1965; 吉武・秋山, 1965; 吉武, 1966; 吉武, 1968; 江口・澤木, 1971; 劉等, 1984).

누에의 동위효소중의 하나인 esterase는 유충기의 체액, 중장, 피부 등에서 집중적으로 연구되어 있으나 번데기 발육과 관련한 연구보고는 매우 적다(江口・杉本, 1964; 吉武, 1966; Eguchi and Iwamoto, 1975; 劉等, 1984).

본 연구는 누에 발육에 따른 esterase 동위효소의 다형성에 관한 실험으로서 누에 번데기시기의 체액 esterase의 경시적 변화에 대해 조사한 바 약간의 결과를 얻었기에 보고한다.

재료 및 방법

공시누에는 현 장려잠풀종인 백옥잠(잠123×잠124)의 일본종계 원종인 잠123을 사용하였다. 체액채취는 번데기 시기의 발육단계별 암·수별로 상법에 따라 하였다.

동위효소 분리용 젤은 1.5% agarose + 1.5% polyvinylpyrrolidone K 90, 영동용 완충액은 Veronal 완충액(pH 8.6, $\mu=0.05$)이었다. 효소기질액은 0.1% β -naphthylacetate 용액이 사용되었고 영동은 8×12 cm의 agarose 젤판을 사용, 120 V의 정전압에서 30~40분간 하였다. 영동종료후 37°C에서 30분간 효소반응 후 2% fast blue B salt 액을 젤판 위에 분무, 37°C에서 5~10분간 방치한 후 효소활성대가 나타나면 사진촬영하여 분석하였다.

결과 및 고찰

번데기 초기에 있어서 발육단계별 체액 esterase 동위효소의 전기영동 결과는 그림 1과 같다.

화용에서부터 번데기 3일까지의 암번데기에서는 하나의 esterase활성대(Est I)가, 수번데기에서는 2개의 활성대(Est I, Est II)가 각각 검출되었고 번데기 중기도 같은 결과(그림 1에는 보이지 않음)였다. 수번데기에서만 관찰되는 Est II밴드는 번데기초기에는 그 활성이 미약하나 번데기 3일, 5일 (그림 1에는 보이지 않음)이 되면서 그 활성이 증가하였다. 번데기

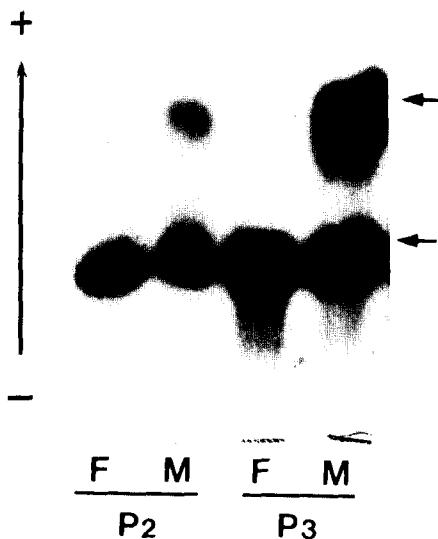


Fig. 1. Zymogram showing esterase isozymes of pupal haemolymph of the silkworm.

F, female; M, male; P2, 2 days pupae; P3, 3 days pupae; Est I, esterase I; Est II, esterase II.

중·후기의 체액 esterase 동위효소의 전기영동 결과는 그림 2와 같다.

번데기 7일째 암번데기에서는 Est I의 하나의 활성대가, 수번데기에서는 Est I 및 Est II의 2개의 활성대가 각각 검출되었으며 번데기 8일 이후는 암·수 모두 Est I 하나의 활성대만이 검출되었다.

이상의 결과에서 번데기 발육에 따른 esterase 동위효소의 경시적 변화의 특징은 ① 번데기의 발육초기부터 후기까지 암·수체액에서 다같이 검출되는 공통적인 밴드 Est I 이 존재하며 ② 번데기 초기에서 중기까지 동위효소 활성대의 수는 암번데기가 1개, 수번데기가 2개로 성에 따라 그 수에 차이가 있으며 ③ 수번데기에서만 검출된 Est II의 활성은 발육에 따라 차이가 있으나, 공통밴드 Est I은 그 차이를 인정할 수 없었다. 누에 발육에 따른 esterase 동위효소의 활성대의 수와 활성도의 변화는 여러 연구자에 의해 보고 되었으나(江口・杉本, 1964; Eguchi & Sugimoto, 1965; Eguchi & Sugimoto, 1975) 번데기의 체액 esterase 활성대의 경시적 변화를 명확히 하지 못했다. 번데기 체액 esterase의 발육에 따른 암·수별 esterase 활성대의 차이가 그 어떤 의미를 가지고 있는지는 아직 명확히 밝히지 못하고 있으나 성에 따른 생리적인 차이로 추정되며 번데기 발육단계 또는

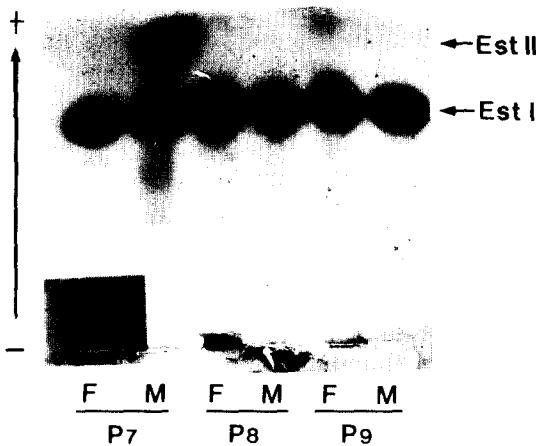


Fig. 2. Zymogram showing esterase isozymes of pupal haemolymph of the silkworm.

P7, 7 days pupae; P8, 8 days pupae; P9, 9 days pupae. See Fig. 1 for further legend.

암·수에 따라 esterase 활성대의 수적인 차이가 있음이 본 시험에서 분명히 확인되었다.

그러나, 이러한 차이가 누에의 모든 계통에 다같이 적용되는 것인지, 유전·생리적 배경은 무엇인지, 누에의 근연곤충인 엣누에, 또는 천잠 등의 곤충에서도 동일한 현상이 나타나는지 등에 대해서는 추후 검토해야 할 것이다.

인 용 문 헌

Ayala, F. J., J. R. Powell, M. L. Tracey, C. A. Mourao and S. Perez-salas (1972) Enzyme variability in the *Drosophila willistoni* group. IV. Genic variation in natural populations of *Drosophila willistoni*. *Genetics* 70:113-139.

Curry, P. J. (1977) Esterase polymorphism in a field population of the American migratory locust *Locusta migratoria migratoria*. *J. Insect Physiol.* 23: 405-414.

Eguchi, M. and A. Iwamoto (1975) Changes in protease, esterase and phosphatases in the alimentary canal of the silkworm during metamorphosis. *Insect Biochem.* 5: 495-507.

江口正治・澤木正彦 (1971) 家蠶中腸のアルカリ性フォスファターゼの多型 II. F型とS型の性質の比較およびN型との関係. 日蠶雑 40(6): 468-472.

江口正治・杉本達芳 (1964) 家蠶の発育に伴なうエステラーゼ型の変化. 日蠶雑 40(6): 468-472.

Eguchi, M. and Sugimoto T. (1965) Changes in esterase zymograms in the silkworm, *Bombyx mori* L.

- during development. *J. Insect Physiol.* **11**: 1145-1149.
- Harris, H.** (1966) Enzyme polymorphism in man. *Proc. Roy. Soc. (London) Ser. B.* **164**: 298-310.
- Hashiguchi, T., M. Yanagida, Y. Maeda and M. Take-tomi** (1970) Genetical studies on serum amylase isozyme in fowls. *Japan. J. Genetics* **45**(5): 341-349.
- 平野 久** (1977) パーオキシダーゼアイソザイムによるクワ品種の類縁関係の推定. *育雑* **27**(4): 350-358.
- Hubby, J. L. and R. C. Lewontin** (1966) A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations; I. The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* **54**: 527-554.
- Hubby, J. L. and S. Narise** (1966) Protein differences in *Drosophila*. III. Allelic differences and species differences *in vitro* hybrid enzyme formation. *Genetics* **57**: 291-300.
- 桑原雅彦** (1982) カンザハダニのアセチルコリンエステラーゼと非特異的エスチラーゼの性質. *應動昆* **4**: 288-293.
- 劉治國 · 小林正彦 · 吉武成美** (1984) 家蠶中腸の耐熱性のエスチラーゼに関する遺傳學的研究. *日蠶雑* **53**(5): 432-435.
- Minezawa, M., K. Moriwake and K. Kondo** (1981) Geographical survey of protein variations in wild populations of Japanese house mouse, *Mus musculus molissinus*. *Jpn. J. Genet.* **56**: 27-39.
- 長戸かおる** (1979) アイソザイム變異に基づく我が國のシバキソモシ屬の種間および種内關係. *日育雑* **29**(1): 49-58.
- Narang, S., A. C. Terranova, I. C. McDonald and R. A. Leopold** (1976) Esterases in the house fly. Polymorphisms and inheritance patterns. *The Journal of Heredity* **67**: 30-38.
- Purdom, C. E. and D. Thompson** (1976) Genetic analysis of enzyme polymorphisms in plaice (*Pleurone plissa*). *Heredity* **37**(2): 193-206.
- Selander, R. K. and S. Y. Yang** (1969) Protein polymorphism and genic heterozygosity in a wild population of the house mouse (*Mus Musculus*). *Genetics* **63**: 653-667.
- Yamamoto, K.** (1975) Estimation of genetic homogeneity by isozymes from interspecific hybrids of *Vicia* I. Amylase isozyme patterns in hybrid progenies between *Vicia pilosa* and *V. macrocarpa*. *Japan. J. Breed.* **1**: 60-64.
- 吉武成美** (1968) 家蠶 日本種の起源に関する一考察. *日蠶雑* **37**(2): 83-87.
- 吉武成美** (1966) 種種の酵素型からみたクワコとカイコの類縁関係について. *日遺雑* **41**(4): 259-267.
- 吉武成美 · 秋山昌子** (1965) カイコの幼蟲血液における酸性ホスハターゼ型の品種間差異について. *日蠶雑* **34**(2): 99-103.