

最近文獻 抄錄

Takao Niino, Kazuto Shirata and Seibi Oka (1995)
Viability of Mulberry Winter Buds Cryopreserved
for 5 Years at -135°C , J. Seric. Sci. Jpn. 64(4):
370-374

뽕잎은 누에飼育을 위해 필요한 遺傳資原인데, 현재 일본에서 維持保存되고 있는 뽕品種은 4系統 약 1,000品種이다. 이들 品種은 慣行保存方法으로 圃場狀態에서 植栽保存되므로 維持管理에 많은 努力과 費用이 들기 때문에 보다 새롭고 효과적인 뽕品種 保存法이 요구된다.

그래서 최소의 空間과 努力으로 遺傳資原을 長期間 保存할 수 있고 가장 可能性이 있을 것으로 생각되는 低溫에 의한 遺傳資原 保存法이 추진되고 있다. 따라서 이 실험에서는 뽕遺傳資原을 長期間 安全하게 保存하기 위한 실용적인 방법을 開發하고자 376品種의 뽕나무 가지 先端 10 mm 정도를 절단 冬芽를 採取하여 매일 10°C 씩 -30°C 까지 溫度를 떨어뜨린 후 -135°C 에 凍結保存하여 試驗을 수행하였다. 5년 동안 -135°C 의 超低溫槽에 保存한 뽕나무 冬芽를 37°C water bath에서 急速加溫 融解 후 莖頂培養에 의해 再生시킨 결과 376品種 중 279品種이 50% 이상의 shoot 形成率을 나타내었다. 모든 品種의 平均 shoot 形成率은 58.8%로 비교적 높은 수준이었다. 그리고 5년동안 超低溫凍結保存 후 再生된 3品種의 peroxidase isozyme의 패턴은 凍結保存하지 않은 것과 差異가 없었다. 또한 超低溫 凍結保存된 冬芽로 接木을 해도 再生되었다.

이상의 결과 冬芽를 利用한 超低溫 凍結保存法은 뽕나무 遺傳資原의 長期保存을 위한 효과적이고 실용적인 保存法으로 確認되었다.

<蠶絲昆蟲研究所 崔榮哲>

米材 勇(1995) 昆蟲 壽命蛋白質(Ju-my Protein:JP)의 機能과 利用 Misc. Publ. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci, 20: 35-42.

수명유전자(Ju-my gene)의 산물이라고 생각되어 지는 수명단백질은 초파리(*Drosophila melanogaster*)에서 최초로 발견되었으며, 다수의 미약한 유전자에 의해서 결정된다고 알려져 있다. 몸을 구성하는 기관이나 조직 등은 다양한 효소활성의 균형이 수명에

영향을 주는 것으로 알려져 있으며, 생식연령을 지나 노화하여 죽음에 이르는 program된 유전자, 즉 노화 유전자에 의해 수명이 결정된다는 설이 주종을 이루고 있다. 그러나 실제로 초파리를 이용한 단명계통과 장명계통을 수립하여 교배실험을 한 결과, 수명에 관여하는 유전자 좌위수는 $N=0.54$ 로 극히 소수의 유전자에 의해서 엄밀히 결정된다는 것이 확인되었다. 특히 초파리에서의 수명단백질은 우화 이전 유충기 후반에서 용기전반에 걸쳐 수명유전자가 발현되며, 우화시 수명 분화가 완료되어 분자량 77,000(77 kDa)의 수명단백질이 출현한다. 장명계통의 초파리 번데기로 부터 77 kDa 단백질을 추출 정제하여 성충사료에 첨가하여 급여하면 수명이 현저하게 연장되는 것이 확인되었으며, 특히 이 단백질의 발현양식은 수명 유전양식과도 일치하였고, 수명유전자를 code하는 단백질 즉 수명유전자의 산물이라는 것이 증명되었다.

한편 항 JP 항체를 이용하여 동물계에서 JP의 분포를 조사한 결과, 꿀벌(*Apis mellifera*), 누에(*Bombyx mori*) 등 곤충외에 mouse나 사람등의 포유류에서도 JP가 존재하는 것이 확인되었다. 곤충에서는 유충기 후반에서 용기에 걸쳐, mouse에서는 수정후 2주째의 태아, 사람에서는 수정후 6주째의 태아에서 JP가 출현한다. 곤충에서는 이 시기에 성충기관이 원기가 형성되고, 포유류의 태아에서는 뇌, 심장, 간장, 신장 등 생명유지에 중요한 역할을 담당하는 여러 기관이 형성되는 시기이다. 한편 초파리의 수명단백질을 mouse의 사료에 첨가하여 급여하면 현저하게 수명이 연장되는 것을 알 수 있었다. 특히 JP 섭취시기에 따라 수명연장효과가 달라 섭취시기가 빠를수록 그 효과가 크게 나타났다. 그의 수명단백질의 기능으로 포유류의 뇌신경 세포의 성장촉진 및 성숙속 촉진효과 등이 확인되었으며, 특히 사람에 대해서도 이들 효과가 기대되어 건강식품 등의 형태로 고령자의 건강유지, 건강회복 및 수명연장 등에 공헌할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 이들 기능의 산업적 응용외에 JP의 미지의 효과 검색 등도 금후의 중요한 연구과제라 할 수 있다.

<잠사곤충연구소: 김종길>

加藤弘·武部豊-(1993) グリオギザル・水溶性 ウレタン・ヒドラジン による 樹脂加工網織物の 防しわ性の 改善日蠶雜 第 63卷 第 4號: 269-277

종래 견직물에 대한 수지가공은 handling, 촉감약화, 광택, 백도가 저하하는 표면 코팅 가공으로서 거의 실용화되고 있지 않은 실정이다.

양장분야에서의 수요확대와 함께 세탁에 의한 수축과 주름이 되기 쉽고 황변등의 견제품의 결점개선이 오랫동안 강하게 요구되어 오고 있다.

셀룰로오스 섬유에 이용되는 디메칠에칠렌요소(Rafai *et al.* 1992)와 열반응형 수용성 우레탄수지를 프린트하여 수지가공하면 견 본래의 광택, 촉감, 강연성, 흡습성등의 특징을 갖는다고 하며 전습양주름방지와 습마찰 견뢰도를 현저하게 향상시킴과 동시에 견의 황변방지에 가장 큰 효과가 있다고 하는 티오요소포르말린 수지에 침적한 황변억제 효과가 얻어지는 것을 발견하였으나 가공중 또는 일시적 경과에 따라서 가공포로부터 발생하는 유리 formaldehyde가 가장 큰 문제로 여겨진다.

따라서 디메칠에칠렌 요소의 대체물로서 수지중의 유리 formaldehyde가 적은 내가수분해성의 Glyoxal계수지(松# 1975)인 디메칠 glyoxal mono우레탄과 열반응형 수용성 우레탄과 알킬히드라진 유도체를 복합 사용으로 견직물을 수지 가공 할때의 수지 부착율, 주름방지성등의 가공효과 및 가공포로부터 용출되는 formaldehyde량을 검토하였다.

주름방지가공에 대해 현재로서는 비 formaldehyde계인 디메칠 디히드로키칠에칠렌 요소 및 폴리카본산계 등에 의한 가공이 주로 되고 있으나 Glyoxal계 수지를 사용한 이후 나타나는 문제점 즉 Glyoxal계 수지의 기본 구조중의 메치를 축쇄, 히드로키친축쇄와 다르기 때문에 견직물의 반응성과 가공효과에 대한 물성을 알아본 결과는 다음과 같다.

Curying 온도와 수지부착율, 주름방지도의 관계를 볼때 Curying 온도 130°C~150°C에서 영향이 현저하였으며 curying 온도가 높을수록 수지부착율도 습방추도도 향상시킬 수 있으며 Glyoxal 단독처리보다도 수용성 우레탄을 혼합사용하므로써 수지부착율을 크게 하고 정착율을 향상시킬 수 있을것으로 기대된다.

(참사곤충연구소 : 이광길)

H. Mori, M. Yamao, H. Nakazawa, Y. Sugahara, N. Shirai, F. Matsubara, M. Sumida & T. Imamura (1995) Transovarian Transmission of a Foreign Gene in the Silkworm, *Bombyx mori*, by *Autographa californica* Nuclear Polyhedrosis Virus. *Bio/Technology*, 13, 1005-1007

곤충 Baculovirus를 이용한 외래유전자 발현 및 물질 생산계는 AcNPV와 BmNPV를 중심으로 기 개

발되어 유용물질 생산 및 유전자 해석등에 널리 이용되고 있다. 그러나 이러한 벡터시스템은 바이러스의 숙주 특이 감염 및 증식성을 이용한 것으로 감염된 숙주는 결국 치사됨에 따라 영속적인 물질발현체나 형질전환체의 창출에는 이용되지 못하고 있다. 그러나 최근, Baculovirus 유전자중 감염초기에 발현되는 immediately early gene(IE1)의 프로모터나 초파리의 Hsp70 유전자 프로모터 조절하에 외래유전자를 연결한 전이벡터 제작과 곤충배양세포에의 염색체화까지 시도되고 있다. 본 연구에서는 누에 BmN 세포에서 증식은 하나 병원성은 없는 AcNPV를 이용하여 전이벡터를 만들어 형질전환 누에를 제작하고 경란전달을 확인하였다. AcNPV를 이용한 전이벡터 제작은 바이러스의 다각체 프로모터 대신에 초파리의 Hsp70 유전자의 프로모터와 reporter 유전자로 개뿔벌레의 luciferase 유전자를 연결하여 pAcHSP-luc이라는 전이벡터를 작성하였다. 제작한 전이벡터는 AcNPV의 바이러스 DNA와 함께 BmN 세포에 동시감염시켜 재조합 바이러스를 선발하였다. 제작한 재조합 바이러스를 누에 5령 유충에 경피접종한 후 유충말기, 번데기, 나방시기에 각각 luciferase 유전자의 활성을 확인하였으며, 또한 정상 숫나방과 교미하여 얻은 F1 세대 중 193개의 시료 가운데 4개 시료에서, 더우기 F2 세대에서도 활성이 검정되어 경란전달이 인정되었다. 또한 luciferase 유전자 및 바이러스 DNA의 경란전달 유무를 유전자 수준에서 확인하기 위해서 PCR 및 southern hybridization법으로 확인한 결과 F1 및 F2 세대의 깻누에와 5령 유충의 genomic DNA에서 luciferase 유전자 및 AcNPV의 V-cathepin 유전자가 확인되었다. 한편 형질전환된 5령 말기 유충, 번데기 및 F1, F2 세대의 5령 유충 혈구에서의 luciferase 활성은 각각 전체 혈구의 64%, 3.2%, 0%에서 관찰되었으며, 이는 luciferase 유전자의 제거 보다는 불활화된 것으로 추측되었다. 이와같이 AcNPV DNA에 재조합된 외래 유전자는 누에 유충에 염색체화되어 최소한 F2 세대까지 안정적으로 유지되는 것으로 보아 금후 형질전환 누에 제작을 위한 하나의 도구로써 그 이용이 기대된다.

(참사곤충연구소 강석우)

MARTINA ANTON AND FRANK L. GRAHAM (1995) Site-Specific Recombination Mediated by an Adenovirus Vector Expressing the Cre Recombinase Protein: a Molecular Switch for Control of Gene Expression. *J. Virology*, 69(8), 4600-4606.

모든 DNA는 재조합된 DNA이다. 즉, 재조합(reco-

mbination)과 돌연변이(mutation)과정을 거치면서 진화되어왔고 결국은 복잡한 염색체 구조를 구성하였다. 이러한 유전적 변이과정은 염색체를 재배열하였으며, 특히 고등세포의 경우 염색체 진화(chromosome evolution)는 일시적 사건이 아니라 어떤 목적을 달성하기 위해 세포 내 효소에 의해 진행되는 세포내 필수과정(essential cellular process)으로 인식되고 있다. 2개의 짧고 특이한 염기서열 사이에서 일어나는 site-specific recombination은 박테리오파아지에서 다수 규명되었으며, 이 과정에서 주도적으로 작용하는 재조합효소(recombinase)는 특정 염기서열 부위를 인식하고 화학양론적으로 작용하는 것으로 알려져 있다. 본 논문은 상기 언급한 재조합 시스템 중 박테리오파아지 P1에서 밝혀진 Cre-loxP 시스템을 인간 Adenovirus 벡터 시스템에 응용하여 효율적인 유전자 도입 방법을 제시하였다. Cre-loxP 시스템은 38 KDa의 recombinase 단백질(Cre)과 hair-pin loop 구조를 갖는 34 bp의 loxP(target sequence)로 구성되어 있으며 Cre 단백질이 loxP의 2개의 반복서열(inverted repeats)에 결합하고, 반복서열내의 core region (8 bp)은 loxP site와 또하나의 loxP site내의 intermolecular recombination시 정확한 재조합이 일어날 수 있게 하는 역할을 담당하는 것으로 알려졌다.

상기 언급한 연구배경을 근거로 본 실험에서는 hCMV(human cytomegalovirus) promoter에 조절되는 Cre 유전자를 coding하는 Adenovirus recombinant 벡터(Ad5, replication-defective)를 제작하여 재조합 바이러스를 선별하고 293세포주(replication permissive)와 MRC5 세포주(replication nonpermissive)에서 Cre 유전자가 발현됨을 입증하였다. 또한 재조합 Cre 단백질의 기능성 검정을 위하여 Luciferase를 coding하는 plasmid에 loxP site를 도입하고 luciferase를 knockout 시키기 위한 spacer region이 함께 도입된 재조합 플라스미드에 in vitro recombination assay를 한 결과 Cre 단백질에 의해 재조합 플라스미드가 recombination에 의한 분리가 이루어짐을 밝혔다. 이상의 결과로 Adenovirus를 이용한 site-specific recombination이 성공적으로 일어남을 확인하였고, 이것을 토대로 인간세포의 염색체에 loxP sites를 도입하여 세포수준에서의 gene delivery 시스템 이용을 계획하였다.

(잠사곤충연구소 김상현)

Bhuiyan, Md. K. Rabbani and Jojiro Nishigaki (1995) Effect of Different Temperatures on the

Rearing of 1st and 2nd Instar Larvae of the Cupreous Chafer, *Anomala cuprea* (HOPE) (Coleoptera: Scarabaeidae) in Decomposed Cow-Dung under Laboratory Conditions. Appl. Entomol. Zool. 30(3): 401-406

구리풍뎅이(*Anomala cuprea*)는 땅콩, 고구마 및 잔디와 묘목장의 주요 풍뎅이과 해충이다. 유충은 땅속에서 나무나 풀의 가는 뿌리를 가해하며 성충이 되면 주로 야채의 잎을 먹어치우므로 수확에 큰 손실을 가져온다.

이 해충은 자연조건하에서는 생활환(生活環)이 매우 길기 때문에 대량사육이 어려워 지금까지 방제를 위해 실험실 조건하에서 시험재료로 사용되지 못하고 있다. 풍뎅이과 곤충의 인공사육에 대해서는 4편 정도의 연구보고가 있고 구리풍뎅이의 사육역시 실험실 조건하에서 가공처리한 식물잎을 먹이로 사용해서 시도된 바는 있다. 그러나 본 연구는 식분성(食糞性)곤충이 아닌 구리풍뎅이를 분해소똥을 이용해서 사육 시험해 본 것이다. 시험에 공시한 사료로서는 건조 분해소똥과 증류수를 1:2로 혼합한 것을 사용하였는데 이것을 먹이로 해서 구리풍뎅이 1령, 2령유충을 22°C, 25°C, 28°C, 30°C 및 32°C의 정온조건하의 실험실내에서 사육하였다. 그 결과 가장 성장이 빠르고 사망율도 낮았던 것은 30°C구였다. 22°C, 32°C라고 하는 양극의 저, 고온구에서는 1령유충의 사망율이 대단히 높았으나 2령유충때는 32°C구에서만 사망율이 높았다. 유충의 성장은 시험초기부터 점차증가하였으나 어떤 온도구에서는 탈피기에 이르렀을때 체중이 다소 감소하였다. 모든 온도조건하에서 2령유충기때 사육중의 일부 유충에 극단적인 발육지연현상이 보였다. 특히 28°C, 30°C구에서는 정상적인 것의 3~4배 정도 발육기간이 소요되는 개체가 많았다. 또 30°C, 32°C구의 발육지연개체는 2령유충기에 모두 사망하였다. 체중은 탈피기 또는 사망전까지 크게 변하지 않았으나 22°C와 25°C구에서는 매우 불규칙적이었다.

여하튼 본 연구의 결과는 30°C에서 분해소똥으로 구리풍뎅이를 사육했을 때 최단기간에 최소사망율을 나타냄으로 1, 2령 유충을 사육할 수 있음을 보인 것이다. 소똥은 비교적 입수가 손쉽고 장기간 저장이 가능하며 가격이 매우 저렴하다는 점에서 인공먹이로서 매우 훌륭한 소재로 생각되며 식분성곤충이 아닌 구리풍뎅이를 소똥으로 사육가능한 점이 매우 흥미로운 연구결과이다.

(잠사곤충연구소 설광열)