

흰점박이꽃무지 (*Protaetia brevitarsis*) 유충으로부터 곤충내저온성 단백질의 분리 및 특성규명

박두상, 우정환, 박호용

생명공학연구소 곤충자원실

곤충 내저온성 메카니즘의 해명을 위한 연구의 일환으로서 흰점박이꽃무지 (*Protaetia brevitarsis*) 유충의 내저온성에 대한 연구를 수행하고, 저온처리된 유충의 혈림프로부터 새로운 종류의 내저온성 단백질을 선택적인 염색과 액상크로마토그래피, HPLC등의 방법에 의해 분리하고, 부분적인 아미노산의 서열을 결정하였다. 내저온성의 유도를 위하여 흰점박이꽃무지 3령유충을 4 °C에서 3시간 전처리 하였을 경우 -10 °C 5시간 후의 생존율은 70%로 나타나 전처리를 실시하지 않았을 경우의 35% 생존율보다 높게 나타났다. 또한 4 °C에서 장기간 저온처리후의 동일조건 생존율은 거의 100% 정도로 높게 나타나는 것으로 보아 급속 내저온성과 장기저온순응에 대한 다른 메카니즘이 존재함을 알수 있었다.

급속저온처리 (4°C, 3시간) 된 유충으로부터 선택적으로 유도되는 단백질을 SDS-PAGE에 의해 확인하였으며, 이를 Sephadex-G75 액상크로마토그래피와 reversed-phase HPLC 과정을 통하여 순수분리하였다. 정제된 단백질은 SDS-PAGE에서 약 25kDa의 분자량을 나타내었으며, differential scanning calorimeter 분석 시 -13.98 °C의 freezing point와 1.60 °C의 melting point를 가지는 것으로 판명되었다. 정제된 단백질을 trypsin으로 처리한 후, RP-HPLC를 통하여 다수의 펩타이드 단편을 획득하였으며, 이를 이용하여 부분적인 internal amino acid sequence를 결정하였다.