

### 3-4-18. Cloning of a Easter-like Serine Proteinase Which Proposed as a Substrate of the Immune Related Serpin from the Silkworm, *Bombyx mori*.

Doo-Sang Park, Eun-Young Seo, Ho-Yong Park

Insect Resources Laboratory,  
Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology

Phenoloxidase (PO)는 곤충에서 melanin의 합성에 관여하는 중요한 효소로서 cuticle의 경화작용과 phagocytosis, encapsulation 과정에 관여한다. Phenoloxidase는 불활성의 prophenoloxidase (proPO)가 proPO activating enzyme (PPAE)에 의해 N-말단의 일부서열이 절단됨으로서 활성화 되며 활성화된 PO는 phenol compound의 산화에 의해 매우 독성이 강한 quinines을 생성하므로 외부침입자 뿐만 아니라 곤충자체에도 독성을 나타낼수 있다. 따라서 PO 활성화의 조절은 곤충의 생존에 필수적인 요인이 된다. 우리는 이러한 proPO의 활성화에 negative regulator로 추정되어지는 새로운 종류의 serpin (serine type protease inhibitor)의 cDNA와 genomic DNA를 흰불나방 (*Hyphantria cunea*)의 유충으로부터 분리하고 그 특성 및 면역학적 조사에 의한 특성을 보고한 바 있다. 흰불나방의 recombinant serpin을 이용하여 제조한 polyclonal antibody를 이용하여 silkworm의 hemolymph로부터 SDS-PAGE와 western blot에서 분자량 55.5 kDa과 50 kDa를 가지는 두가지 단백질을 ammonium sulfate precipitation과 여러가지 column을 이용하여 분리하였다. 55.5 kDa protein은 흰불나방에서 보고된 바와 같이 silkworm의 immune related serpin으로 추정되어지며 50 kDa protein은 internal amino acid 서열분석 결과 serpin의 기질이 되는 protease의 일부서열이 나타남으로 보아 serpin-protease의 complex일 것으로 추정된다. 밝혀진 부분적인 아미노산 서열을 바탕으로 하여 degenerate probe를 제작하고 RT-PCR과 cDNA screening을 통하여 새로운 종류의 protease를 cloning하였으며 cDNA가 encode하는 아미노산서열의 특성을 조사하여 본 바 *Drosophila easter* 및 여러 곤충의 PPAE와 높은 상동성을 가지는 것을 알수 있었다.