

홍모기 (*Culex pipiens pallens*)의 난성숙 과정 중 alkaline phosphatase의 활성

이영수 · 이승훈 · 박영민 · 성기창

성균관대학교 이과대학 생물학과

*Culex pipiens pallens*에 존재하는 alkaline phosphatase의 연구를 위한 적정 분석조건과 우화 후, 시간 경과에 따른 alkaline phosphatase 활성 경향에 대해서 연구하였다. *C. pipiens*에 존재하는 alkaline phosphatase의 활성은 우화 직후부터 지속적으로 감소하다가, 흡혈 자극에 의해서 급격하게 증가한다. 흡혈 후 30시간이 경과했을 때, 최대의 활성도를 보이고 감소하나, 흡혈 48시간 이후에는 다시 증가하여 지속적으로 유지됨을 알 수 있다. 기관별 분석에서 첫번째 활성 증가는 중장에서 일어나고, 두번째 활성 증가는 난소에서 일어남을 알 수 있다. 그리고 흡혈 후 30시간된 성체에서는 5개의 동위효소 밴드가 보이는데, 난소에서 ALP-1와 ALP-2가 나타나고, 가슴에서는 ALP-3, ALP-4와 ALP-5가 보인다. 지방체에는 ALP-4와 ALP-5가, 중장에서는 ALP-3, ALP-4와 ALP-5가 나타남을 알 수 있다. 그리고 흡혈 후 72시간된 성체에서, ALP-1, ALP-2가 동일하게 존재함을 알 수 있다.

KEY WORDS: *Culex pipiens*, Alkaline phosphatase, Assay condition, Electrophoresis, Specific staining

모기가 흡혈 후 난성숙을 수행하는데 관여하는 효소에 대한 연구는 미비하다. *Aedes aegypti*에 존재하는 DOPA decarboxylase (aromatic-L-amino acid decarboxylase, EC 4.1.1.28)가 cuticle 층과 난소의 성장 특히 sclerotization에 관여하며 (Schlaeger *et al.*, 1974; Wang-Fun and Fuchs, 1976), *A. aegypti*와 *Culex pipiens*에서 흡혈에 의해 중장으로 들어온 혈액이 trypsin에 의해 분해되고, 그 분해 산물은 상피세포로 흡수되어 Vitellogenin (Vg) 합성의 전구물질로 이용된다 (이, 강, 1985; Borovsky, 1986; Felix *et al.*, 1991). 그리고 *A. aegypti*에서 Vg의 합성을 끝내는 시기에 중장 상피세포에 존재하는 lysosome의 활성이 급격하게 증가하는데 Cathepsin D의 활성이 가장 두드러진다 (Raikel, 1986; Wen-Long *et al.*, 1991). 또한 *A. aegypti*가 흡혈한 후에, malate

dehydrogenase 활성은 흡혈 전보다 2배 이상으로 증가하고 흡혈 후 새롭게 합성되는 동위효소가 난소내에 존재함이 밝혀졌다 (김, 1984).

Fortunato와 Fuchs (1980)는 흡혈 전, 후의 *A. aegypti*에서 16개 효소의 전기 영동을 통한 활성 변화를 관찰하였다. 6개의 효소가 두드러진 변화를 보였는데, 그 중 하나가 alkaline phosphatase 이다. 그런데 이 변화가 모기의 난성숙과 어떤 연관이 있는지에 대한 연구는 미진한 상태였다. 단지 Gorgees 등 (1978)이 *A. aegypti*에서 ecdysone으로 처리한 유충의 중장에서 alkaline phosphatase 활성이 약간 증가한다는 보고를 하였는데, 이것은 모기의 난성숙 과정에서 가장 많이 밝혀진 호르몬의 기작과 연계하여 alkaline phosphatase가 작용하는지를 밝힐 수 있는 가능성을 보여주었다.

한편, Alkaline phosphatase (orthophosphoric monoester phosphohydrolase,

alkaline optimum. EC 3.1.3.1)는 다양한 조직에 광범위하게 존재하고 있다. 특히 태반, 내장 및 간/췌/신장 등에서 높은 활성도를 보이거나 근육, 결합조직 또는 연골에서는 그 활성도가 미약하다(Coleman and Gettins, 1983; Avijit and Stinson, 1985; Besman and Coleman, 1985). Alkaline phosphatase는 비특이적으로 orthophosphoric monoester 결합을 가수분해시키나 정확한 생체내 기능은 모른다(Trentham and Gutfreund, 1968). 이 효소는 세포막에 phosphatidylinositol glycan으로 연결되어 있고(A drew *et al.*, 1987; Eva *et al.*, 1991; Ricardo *et al.*, 1992), Ig G의 이동과 주위의 조건에 따라서 인산의 이동에 작용을 하는 것으로 알려져 있다(Kazuyuki *et al.*, 1985; Ricardo and Torgny 1992).

본 실험에서는 *C. pipiens*를 재료로 하여 alkaline phosphatase의 적정 분석 조건과 난성숙 과정에서의 alkaline phosphatase의 활성도 변화에 대한 조사를 하여 앞으로 *C. pipiens*의 난성숙 과정에서 alkaline phosphatase가 어떤 작용을 하는지를 밝히는데 기초를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

모기 사육 및 시료 준비

홍모기(*Culex pipiens pallens*)는 한국 국립보건원에서 분양 받아, 'Manual for Mosquito and Experimental Technique' (American Mosquito Control Association Inc.)에 기술된 사육 방법에 따라 항온(27±1°C), 항습(70±5%), 명암(16 시간: 8 시간)이 조절되는 항온 항습실에서 사육 하였다. 흡혈이 가능한 우화 후 3 일 이상 지난 모기는 실험용 흰 쥐를 이용하여 흡혈 시켰다.

Alkaline phosphatase 활성을 측정하기 위한 시료로는 0.1 M Tris-HCl buffer, pH 7.5로 glass homogenizer를 이용하여 파쇄 후,

16,000×g, 10 분동안 원심분리한 후 상등액을 사용하였다. 모기의 각 기관은 살아있는 상태에서 머리와 가슴 부위를 먼저 떼어낸 후, 가슴 쪽으로는 중장을 꺼내고 복부의 마지막 마디를 잡아 당기면서 난소와 지방체를 분리하였다. 이때 함께 분리되는 창자와 말피기씨관(Malpighian tubules)은 제거 하였다.

Alkaline phosphatase의 활성도 측정

Bessey 등(1946)의 방법을 아래와 같이 변형하여 사용하였다. 0.2 M Tris-HCl buffer, pH 9.0, 0.5 mM MgCl₂, 3.25 mM *p*-nitrophenyl phosphate로 구성된 반응용액을 만든 후 이 반응용액 2 ml과 시료 50 μl를 취하여 37°C에서 정확히 30 분간 반응 시켰고 1 N NaOH, 5 ml을 첨가하여 반응을 저지한 후 405 nm에서 흡광도를 측정하여 효소 활성도 단위를 계산하였다.

전기영동과 효소 특이 염색

전기영동은 Davis(1964)의 non-dissociating discontinuous buffer system을 사용하였다. Alkaline phosphatase에 대한 특이 염색은 azo-coupling 방법을 아래와 같이 약간 변형하여 사용하였다(Gaál *et al.*, 1980; Othmar and Gersten, 1992)

Boric acid(0.06 M), MgCl₂(0.01 M) 용액에 KOH를 이용하여 pH 6.8로 조정하고 1 mg/ml fast blue BB와 3.25 mM β-naphthyl phosphate를 첨가하여 만든 용액을 이용하여 전기영동이 끝난 gel 상의 alkaline phosphatase를 염색하였다. 염색 밴드를 정확히 구분하기 위하여 440 nm filter를 이용하여 densitometry를 실시하였다.

결과

Alkaline phosphatase의 활성도 측정 조건

Tris buffer의 농도는 alkaline phosphatase 활성에 영향을 미친다. 이것은

phosphoseryl intermediate가 분리되는 비율을 증가시키는 역할을 Tris가 수행하기 때문 (Trentham and Gutfreud, 1968)으로 효소 활성이 높게 나타나는 Tris 농도와 이 농도에서 *p*-nitrophenyl phosphate의 적정농도를 알아 내어 앞으로의 alkaline phosphatase 활성을 측정하는데 사용코자 하였다. *p*-nitrophenyl phosphate 농도의 변화에 따라 Tris buffer의 농도를 변화시키면서 효소 활성을 측정해 본 결과, 0.2 M Tris buffer 농도와 3.25 mM *p*-nitrophenyl phosphate 농도에서 가장 높은 효소 활성을 보였다(Fig. 1).

pH의 변화에 따른 활성도의 변화는 Fig. 2에 나타내는데, pH 9에서 가장 높은 효소 활성을 보인다. 이것은 기존에 보고된 많은 alkaline phosphatase의 적정 pH에 대한 실험 결과와 차이를 보인다. pH 7보다 낮은 pH에서의 효소 활성은 측정하지 않았다. 이것은 pH 7보다 낮은 pH에서는 acid phosphatase가 작용을 하기 때문이다.

반응 시킬 적정 온도를 알기 위해서 온도를 변화시키면서 효소의 활성도를 측정하였는데 Fig 3(a)에서와 같이 35-37°C에서 최대의 활성을 보이고 있다. 또한, 열에는 얼마나 강한지를 보기 위해서 60°C에서 시간별로 처리하여 그 활성을 측정하였다. 60°C에서 처리를 한지 10 분안에 효소 활성이 거의 소실됨을 알 수 있다(Fig. 3(b)). 즉 시료에 존재하는 alkaline phosphatase가 열에 민감성을 가질 가능성을 보인다.

Fig. 4는 Mg²⁺와 Zn²⁺의 농도 변화가 alkaline phosphatase 활성에 어느 정도 영향을 미치는가를 보여주는데, 0.5 mM Mg²⁺에서 높은 활성을 보였고 Zn²⁺ 단독 또는 Mg²⁺와 같이 처리하였을 때는 Mg²⁺가 단독으로 있을때 보다는 낮은 활성을 보였다.

Alkaline phosphatase의 활성 경향

우화 후 여러단계에서 alkaline phosphatase 활성을 나타내고 있는데(Fig. 5), 우화 직후부터 효소 활성은 암컷이 수컷보다 높기는 하

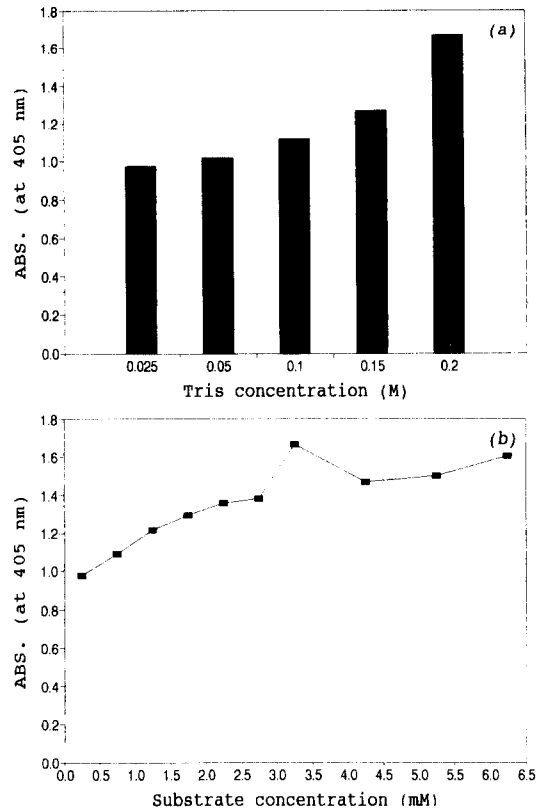


Fig. 1. Effect on the activity of alkaline phosphatase in the crude extract from *C. pipiens* at 30 hr. after a blood meal at various Tris-HCl buffer; in 3.25 mM *p*-nitrophenyl phosphate solution (a) and *p*-nitrophenyl phosphate; in 0.2 M Tris-HCl buffer, pH 9.0 (b) concentrations. Each point represents the mean of 2 separate experiments. Two separate comparison were made using each crude extract.

지만 지속적으로 감소함을 알 수 있다. 또한 암컷을 흡혈시킨 후 활성을 조사하여 본 결과, 흡혈 직후부터 증가하여 흡혈 후 30 시간 때 최대의 효소 활성을 보이고 또한 흡혈 후 48 시간 이후 부터는 감소하던 활성이 다시 증가하여 일정한 수준을 유지한다. 그리고 산란 후 24 시간이 지난 암컷에서의 효소 활성은 흡혈치않고 동일 시간이 된 암컷의 활성과 유사함을 알 수 있다.

이것을 다시 조직별로 추적해보면, Fig. 6과 Table 1에서 나타난 것과 같이 초기의 효소활성 증가는 중장에서 두드러지게 나타나는데 흡혈 후 30 시간에 중장에서 총활성의 92%를 보이다가

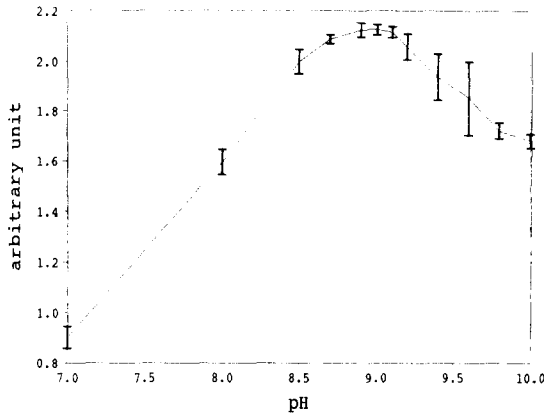


Fig. 2. Effect on the activity of alkaline phosphatase at various pH. pH regulated by addition of HCl solution. Each point represents the mean of 3 separate experiments. Y line scales arbitrary unit because several point experimented another time.

48 시간 이후에는 거의 활성이 없고, 난소로부터 활성이 증가하여 흡혈 후 72 시간 때 총활성의 85%를 보인다. 그리고 지방체나 머리, 가슴부위의 효소활성은 그 변화가 없음을 알 수 있다.

전기영동을 통한 분석

β -naphthyl phosphate를 기질로 사용하여, β -naphthol이 diazonium salt와 결합하여 활성을 보인 위치에서 색을 띤 염료로 변하여 밴드를 나타내는 azo-coupling 방법을 이용하였다 (Othmar and Gersten, 1992). 염색은 붉은 색을 띤 갈색으로 나며, densitometry로 확인하였다.

흡혈 후 효소 활성이 최대가 되는 30 시간 때의 성체에서 장기별로 나타나는 효소 활성의 차이를 전기영동을 통하여 구분할 수 있었다. 몸전체에서는 5개의 밴드가 관찰되는데 Fig. 7에서와 같이 ALP-1, ALP-2, ALP-3, ALP-4와 ALP-5로 칭하였다. 머리에서는 해당하는 밴드가 없고, 가슴에서는 ALP-3, ALP-4와 ALP-5가 보이고, 지방체에서는 ALP-4와 ALP-5가 보이며, 중장에서는 ALP-3, ALP-4와 ALP-5가 보이고, 난소에서는 ALP-1과 ALP-2가 보인다. 또한 흡혈 후 72 시간된 모기에 대한 전기영동 결과는 ALP-1와 ALP-2가 난소에서만

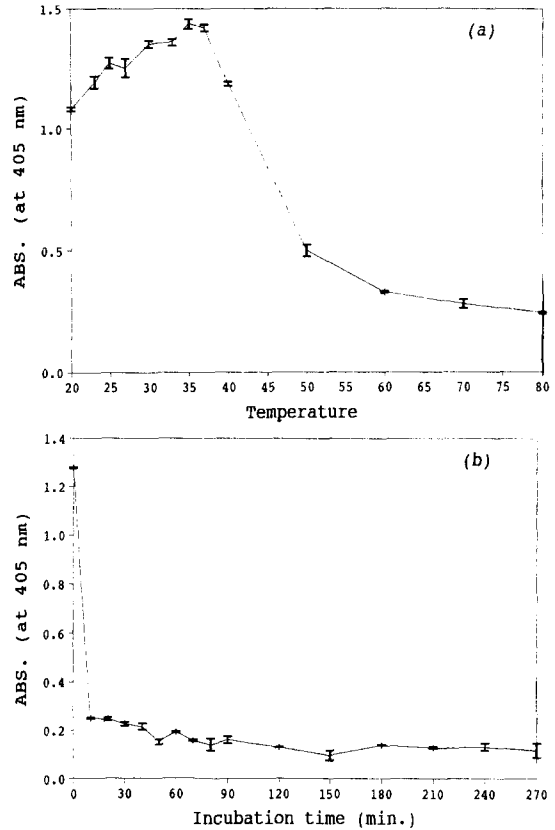


Fig. 3. Effect on the activity of alkaline phosphatase at various temperature(a) and heat stability at 60°C (b). Each point represents the mean of 3 and 5 separate experiments. Three separate comparison were made using each crude extract.

나타남을 확인하였다. 그런데 흡혈 후 30시간과 흡혈 후 72 시간에 나타나는 난소내의 alkaline phosphatase는 다른 Rf 값을 보이고 있다.

고찰

모기의 생리적 변화에 대한 연구는 흡혈 자극에 의해 유발되는 내분비 기작, vitellin에 대한 생화학적 특성등을 규명하는데 집중이 되고있다. 그러나 아직 정확한 기작은 밝혀져 있지 않다. 난성숙을 수행하는데 단지 내분비 계통만이 영향을 미치는 것은 아닐 것이다. 그 과정에서 여러 효소들의 작용이 관여할 가능성은 매우 크나 난

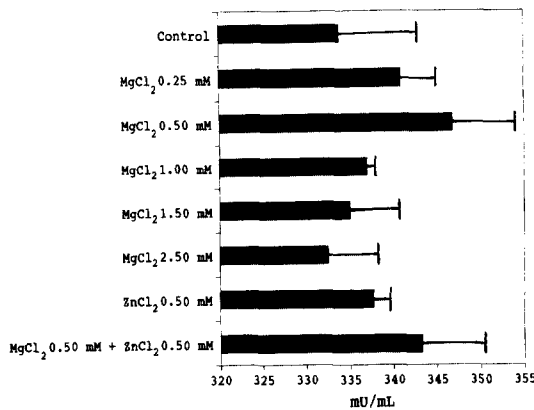


Fig. 4. Effect on the activity of alkaline phosphatase at various Mg²⁺ concentration and/or Zn²⁺ concentration to decide optimal effector concentration in enzyme assay condition. Mg²⁺ and Zn²⁺ cation used in substrate-buffer solution were chlorides.

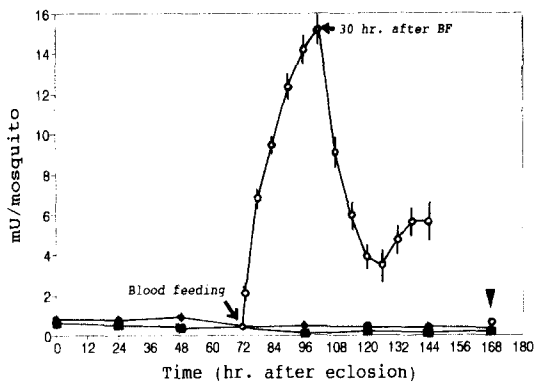


Fig. 5. The activity titer of alkaline phosphatase in the whole body crude extract from *C. pipiens* male and nongravid female at various times after eclosion and gravid female after blood feeding. Each point represents the mean of 2 and 3 separate experiments. Three separate comparisons were made using each crude extract from 10 to 50 bodies. The arrow head show data at a day after oviposition. Marks are ■-■; male, ●-●; nongravid female and ○-○; gravid female.

성숙과 효소와의 관계를 규명하는 보고는 드물며 특히 alkaline phosphatase와 모기의 난성숙간의 관계에 대한 연구는 매우 부진한 상태이다. 본 실험의 결과에 의하면, alkaline phosphatase 활성이 난성숙을 시발하게 하는

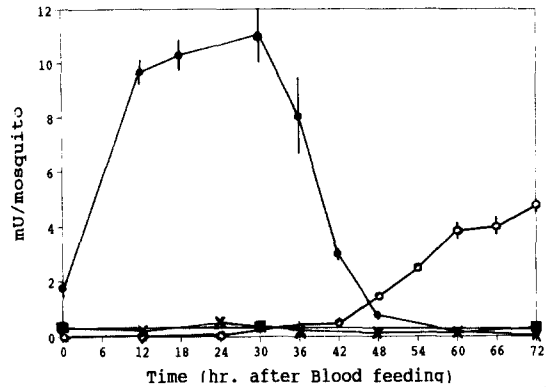


Fig. 6. The activity titer of alkaline phosphatase in the each organ of *C. pipiens* female after blood feeding. Each point represents the mean of 3 separate experiments. Three separate comparisons were made using each crude extract from 10 bodies. Marks are ●-●; midgut, ○-○; ovary, ×-×; fat body and ■-■; head+thorax.

흡혈 자극에 의해서 흡혈 초기에는 흡혈하지 않은 성체와 비슷한 활성을 보이거나 시간이 진행됨에 따라 급격하게 증가하여 흡혈 후 30 시간에 최대의 활성을 보인 후 다시 감소하고 흡혈 후 48 시간 이후에는 다시 증가하여 산란시까지 지속적으로 유지됨을 알 수 있다(Fig. 5). 이것은 난성숙이 진행되는 과정에서 변화하므로 난성숙과 관계가 있음을 예상할 수 있다. 특히 초기의 활성 증가가 중장에서 이루어지고 두번째의 활성 증가가 난소에서 이루어지는 것은 흥미로운 사실이다(Fig. 6). 그리고 산란 후의 성체에 존재하는 alkaline phosphatase 활성이 흡혈을 하지 않고 동일시간을 보낸 성체와 거의 비슷한 수준을 보인 것 또한 난성숙과의 연계 가능성을 높인다. 이것은 전기영동을 통하여 각각의 구별되는 동위효소를 가지고 있음을 알 수 있고(Fig. 7) 특히 중장은 ALP-3, ALP-4와 ALP-5를 가지고 난소는 ALP-1과 ALP-2를 가짐으로써 완전히 서로 구별되는 동위효소를 가지고 있다는 것이 흡혈 후 시간이 지남에 따라 부위별로 다르게 효소 활성을 보이는 것과 연계 되어 각각을 분리, 정제하고 그 생화학적 특성과 함께 난성숙과정과의 관계를 밝히는 연구가 진행중에 있다. 자료는 제시하지 않았으나 실험용 쥐로부터 채취

Table 1. Distribution of alkaline phosphatase in *C. pipiens* female at several hours after a blood meal. Unit is mU/mosquito.

after a blood meal source	0 hr. activity \pm SD (%)	30 hr. activity \pm SD (%)	72 hr. activity \pm SD (%)
Midgut	1.70 \pm 0.22 (74)	11.07 \pm 1.54 (92)	0.08 \pm 0.04 (1.4)
Ovary	0 (0)	0.20 \pm 0.02 (1.7)	4.75 \pm 0.41 (85)
Fat body	0.24 \pm 0.09 (10)	0.38 \pm 0.06 (3.2)	0.42 \pm 0.16 (7.5)
Head+thorax	0.36 \pm 0.05 (16)	0.37 \pm 0.03 (3.1)	0.32 \pm 0.03 (6.1)

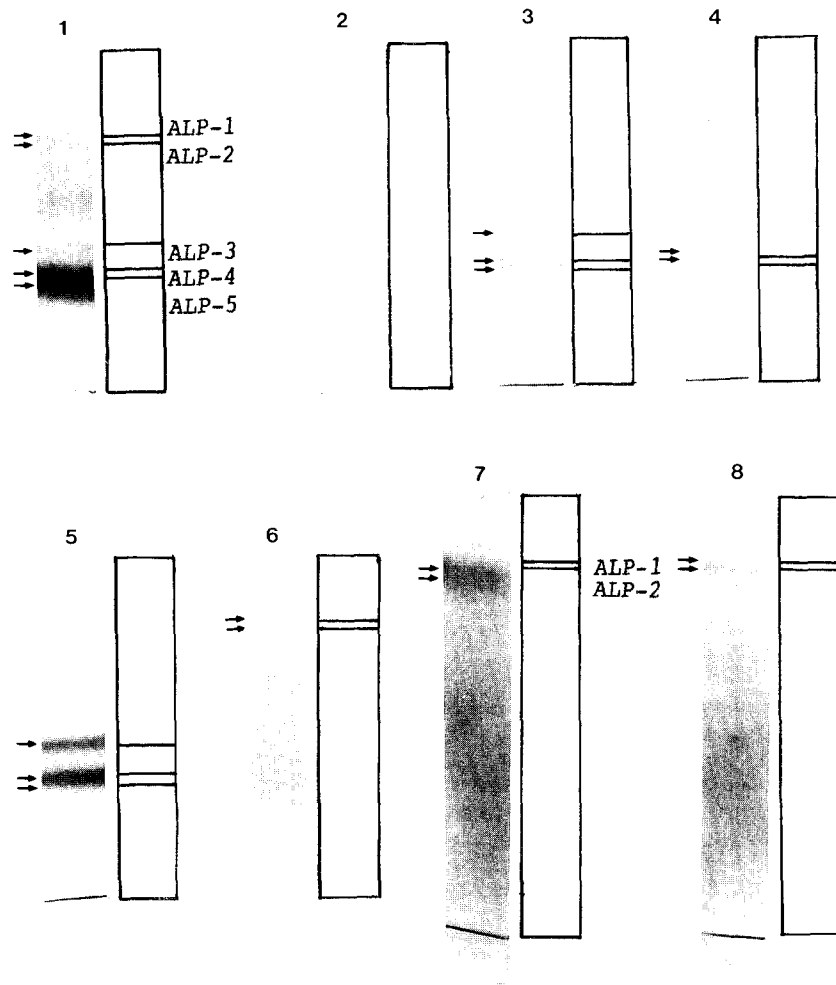


Fig. 7. The band patterns of alkaline phosphatase in *C. pipiens* at 30 hr. and at 72 hr. after a blood meal by specific staining to use the diazo-coupling method after PAGE electrophoresis. The arrow indicates staining band. (1. the whole body crude extract at 30 hr. after a blood meal, 2. the head crude extract at 30 hr., 3. the thorax crude extract at 30 hr., 4. the fat body crude extract at 30 hr., 5. the midgut crude extract at 30 hr., 6. the ovary crude extract at 30 hr., 7. the whole body crude extract at 72 hr. after a blood meal, 8. the ovary crude extract at 72 hr.)

한 피의 alkaline phosphatase 활성과 전기영동을 통한 특이 염색 결과에서 그 정도가 극히 미약함을 알 수 있었으며, 이것은 흡혈된 피속에 존재할지 모르는 alkaline phosphatase의 가능성을 배제할 수 있었다. 또한 흡혈된 피가 증장에서 trypsin에 의해 분해되기 때문에 그 가능성은 더욱 적어진다. 그런데, 흡혈 후 trypsin 활성의 변화를 보면 흡혈 후 계속 증가하여 흡혈 후 30 시간에서 최대를 나타낸다(강, 이, 1985). 물론 2차적인 활성증가는 trypsin에서는 보이지 않으나, 이것은 alkaline phosphatase의 경우와 동일한 시간에서 최고의 활성도를 나타내는 것으로 trypsin과 alkaline phosphatase의 활성간의 연관 가능성에 대한 연구도 요구된다. 또한 자료는 제시하지 않았지만, alkaline phosphatase 활성을 측정할 때 trypsin의 방해를 저지하기 위해 첨가한 PMSF (phenyl methyl sulfonyl fluoride)가 도리어 alkaline phosphatase의 활성을 크게 저해한 결과를 보였는데, 이것은 *C. pipiens*에 존재하는 alkaline phosphatase를 정제하여 그 특성을 밝힐 때 많은 연구가 필요한 부분이다.

*A. aegypti*의 난성숙 과정과는 달리 Vg의 합성이 지방체에서 흡혈 후 24 시간경에 최고로 보이고(강 et al., 1987; 박, 강, 1988, 1989) 난소에서의 vitellin의 합성 가능성(박, 강, 1988, 1989)이 alkaline phosphatase 활성이 흡혈 후 2 번의 활성도 변화를 보이는 것과 관계가 존재할 것으로 보이는데, 초기의 활성 증가가 증장에서 보이는 것은 피속에 존재하는 인산을 분리해내기 위한 것으로 보이고, 흡혈 후 48 시간 이후의 증가가 난소에서 보이는 것은 난소에서 합성되는 vitellin에 인산을 공급하기 위한 것일 가능성이 있다.

인용문헌

- Avijit, C. and R. A. Stinson, 1985. Tetrameric alkaline phosphatase in human liver plasma membranes. *Biochemical and biophysical research communications*. **131**: 328-335.
- A drew, D.H., J. Berger, L. Gerber, P. Familletti and S. Udenfriend, 1987. Characterization of the phosphatidylinositol-glycan membrane anchor of human placental alkaline phosphatase. *Proc. Natl. Acad. Sic. USA*. **84**: 6055-6059.
- Besman, M. and J.E. Coleman, 1985. Isozymes of bovine intestinal alkaline phosphatases. *The journal of biological chemistry*. **260**: 11190-11193.
- Bessey, O.A., O.H. Lowry and H.J. Brock, 1946. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J. Biol. Chem.* **164**: 321-329.
- Borovosky, D., 1986. Proteolytic enzymes and blood digestion in the mosquito, *Culex nigripalpus*. *Arch. insect Biochem. Physiol.* **3**: 147-160.
- Coleman, J.E. and P. Gettins, 1983. Alkaline phosphatase, solution structure and mechanism. *Advanced in enzymology*, John Wiley & Sons. Inc. **55**: 381-452.
- Davis, B.J., 1964. Disc electrophoresis II, Method and application to human serum proteins. *Annal. N. Y. Acad. Sci.* **121**: 404-427.
- Eva, Hoffman-Blume, M. B. Garcia Marengo, Heidrun EHLE, R. Bultz, M. Schulze and A. Horn, 1991. Evidence for glycosylphosphatidylinositol anchoring of intralumenal alkaline phosphatase of the calf intestine. *Eur. J. Biochem.* **199**: 305-312.
- Felix, C.R., B. Betschart, P.F. Billingsley, T.A. Freyvogel, 1991. Post-feeding induction of trypsin in the midgut of *Aedes aegypti* (Diptera; Culicidae) is separable into two cellular phases. *Insect Biochem.* **21**: 197-203.
- Fortunato, P.J. and M.S. Fuchs, 1980. A comparison of the number of multiple enzymatic forms in gravid and nongravid *Aedes aegypti* (Diptera; Culicidae). *J. Med. Entomol.* **17**: 383-384.
- Gaal, Ö., G.A. Medgyesi and L. Vereczkey, 1980. Electrophoresis in the separation of biological macromolecules. John Wiley & Sons Inc. pp 261-286.
- Gorgess, N.S., S.N. Naqvi, L.J. Rashan and S.J. Zakaria, 1978. Effect of Tepa, Shikonin and Ecdysone on the alkaline phosphatase in the larvae *Aedes aegypti*. *Folia Histochemica Et Cytochemica*. **16**: 51-56.
- 강석희, 박영민, 조정래, 문정희, 1987. Vitellogenin synthesis in *Culex pipiens pallens*. *성균논집*. **38**: 173-183.
- 강석희, 이미경, 1985. Some properties of trypsin and chymotrypsin like enzymes from the mosquito, *Culex pipiens pallens*. *성균논집*. **36**: 25-32.
- Kazuyuki, H., Y. Iizumi, Y. Mori, K. Toyoshi, M. Sugiura and S. Iino, 1985. Role of alkaline phosphatase in

- phosphate uptake into brush border membrane vesicles from human intestinal mucosa. *J. Biochem.* **97**: 1461-1466.
- 김인규, 1984. *Aedes aegypti*에 있어서 흡혈 후 생성되는 ovarian mitochondrial MDH에 관한 연구. M.S. Thesis, 성균관 대학교.
- Othmar, G. and D.M. Gersten, 1992. Staining for enzymatic activity after gel electrophoresis I. *Analytical biochemistry.* **203**: 1-21.
- 박영민, 강석희, 1988. Yolk protein deposition in the ovary of the mosquito, *Culex pipiens*. *성균논집.* **39**: 215-223.
- 박영민, 강석희, 1989. Incorporation of ³H-leucine into proteins in vitro by the mosquito, *Culex pipiens pallens*, ovary. *성균논집.* **40**: 1-9.
- Raikhel, A.S., 1986. Role of lysosomes in regulating of vitellogenin secretion in the mosquito fat body. *J. Insect physiology.* **32**: 597-604.
- Ricardo, M. and T. Stigbrand, 1992. Placental alkaline phosphatase is related to human Ig G internalization in Hep2 cells. *Biochemical and Biophysical research communications,* **182**: 624-630.
- Schlaeger, D.A., M.S. Fuchs and S.H. Kang, 1974. Ecdysone mediated stimulation of dopa decarboxylase activity and its relationship to ovarian development in *Aedes aegypti*. *J. cell Biol.* **61**: 154-165.
- Trentham, D.R. and H. Gutfreund, 1968. The kinetics of the reaction of nitrophenyl phosphates with alkaline phosphatase from *Escherichia coli*. *Biochem. J.* **106**: 455-460.
- Wang-Fun Fong and M.S. Fuchs, 1976. Studies on the mode of action of ecdysterone in adult female *Aedes aegypti*. *Molecular and cellular endocrinology.* **4**: 341-351.
- Wen-Long Cho, T.S. Dhadialla and A.S. Raikhel, 1991. Purification and characterization of a lysosomal aspartic protease with cathepsin D activity from the mosquito. *Insect Biochem.* **21**: 165-176.

(Accepted July 1, 1993)

Activity of Alkaline Phosphatase from the Mosquito, *Culex pipiens pallens*

Young-Soo Lee, Seung-Hoon Lee, Young-Min Park and Kee-Chang Sung (Department of Biology, College of Science, Sung Kyun Kwan University, Seoul 110-745, Korea)

Alkaline phosphatase from *Culex pipiens pallens* was examined to determine the optimal assay condition and to assay the activity during ovarian development. The activity of alkaline phosphatase in a male and a non gravid female continuously were declined after eclosion. But by the stimulus of a blood meal, the enzyme activity was increased dramatically. At 30 hr. after a blood meal, the maximal activity was reached and then declined. And after 48 hr. after a blood meal, the second activity increase was revealed. This second increase was maintained up to oviposition. The first activity increase was revealed in the midgut and the second increase was done in the ovary to assay the organ distribution of alkaline phosphatase. In electrophoresis data, it was shown 5 isozyme bands, ALP-1 and ALP-2 in the ovary, ALP-3 in the thorax and the midgut, and ALP-4 and ALP-5 in the thorax, the fatbody and the midgut in crude extract at 30 hr. after a blood meal. One the same ovary pattern were shown at 72 hr. after a blood meal.