

## 담배나방의 난소발생시 폴리아민 합성효소에 미치는 저해제의 효과

우장환 · 김문의 · 김선희 · 이형철 · 정성은\*

한남대학교 이과대학 생물학과

(1999년 5월 18일 접수)

### Effects of Inhibitors (DFMO, DFMA) on Polyamine Synthetic Enzymes (ADC, ODC) during Ovarian Development of the Tobacco Budworm, *Helicoverpa assulta*

Jang Hwan Woo, Moon Ik Kim, Sun Hui Kim, Hyung Chul Lee  
and Seong Eun Jeong\*

Department of Biology, Han Nam University, Taejon 300-791, Korea

(Received May 18, 1999)

**ABSTRACT** : Effects of  $\alpha$ -difluoromethylornithine (DFMO) and  $\alpha$ -difluoromethylarginine (DFMA), inhibitors of polyamine synthetic enzymes (ornithine decarboxylase, arginine decarboxylase), on ovary were investigated during pupal-adult development of *Helicoverpa assulta*. Two inhibitors (DFMO, DFMA) showed definite inhibition effects on ovarian development. The inhibition effect on ovaries weight was more marked in DFMA-injection than that observed in DFMO-injection. Two inhibitors (DFMO, DFMA) gave rise to a peculiar decrease in ornithine decarboxylase (ODC) or arginine decarboxylase (ADC) activity in ovaries, 72 hrs (5-day old pupa) post injection. However, DFMO clearly exhibited suppression of ODC activity after 96 hrs (6-day old pupa). In addition, two inhibitors (DFMO, DFMA) diminished putrescine content in the ovary. The spermidine level was slightly decreased by each injection of the inhibitors. However, two inhibitors (DFMO, DFMA) raised the spermine content at certain developmental stages in the ovary. Although the effect of DFMA was less severe, two inhibitors (DFMO, DFMA) caused not only an overall delay in ovarian development, but also abnormalities in cellular differentiation. Noted effects in the pupal ovary were the appearance of irregular nurse cells and partial destruction of follicle epidermal cells. Adult ovary showed rapid degradation of nurse cells, a reduction in the number of follicle epidermal cells and immature oocytes that had a low yolk content.

**Key words** : polyamine metabolism, ovary, decarboxylase, *Helicoverpa assulta*

\* 연락처자 : 300-791, 대전광역시 대덕구 오정동 133번지, 한남대학교 이과대학 생물학과

\* Corresponding author : Department of Biology, Han Nam University, Taejon 300-791, Korea

생체내의 polyamine 화합물인 putrescine은 ornithine과 arginine으로부터 유도 생성되며, 이 과정은 각각 ornithine decarboxylase (ODC)와 arginine decarboxylase (ADC)의 작용에 의해 이루어진다 (Tabor와 Tabor, 1984; Birnbaum과 Gilbert, 1990; Sparks 등, 1991). 척추동물에서의 polyamine 생합성은 ODC의 작용에 의해 ornithine이 putrescine diamine으로 전환됨으로써 시작되나, ADC의 작용에 의한 polyamine 합성은 존재하지 않는 것으로 보고되고 있다 (Tabor와 Tabor, 1984; Bulfield 등, 1988; Birnbaum과 Gilbert, 1990). 또한 곤충에서도 ODC에 의한 polyamine 합성만이 확인되었을 뿐, ADC의 작용에 의한 polyamine 합성은 불분명하다. Polyamine 생합성의 저해물질인  $\alpha$ -difluoromethylornithine (DFMO)와  $\alpha$ -difluoromethylarginine (DFMA)은 각각 ornithine과 arginine의 analogue들로서, 원생동물들의 ODC와 ADC에 대한 효과적인 비가역적 저해제임이 *in vitro* 및 *in vivo*를 통해 확인된 바 있으나 (Golden 등, 1984; Sjoerdsma 등, 1984; Sjoerdsma와 Schechter, 1984; McCann 등, 1986; Koenig 등, 1989), 곤충에서는 *Musca domestica*의 배발생과정 동안 ODC 활성에 대한 DFMO의 효과만이 확인되었을 뿐 (Sparks 등, 1991), 저해제를 이용한 polyamine 대사에 관한 연구는 거의 이루어진 바 없다.

곤충의 생식세포 형성과정 중 critical period인 용 (pupa)~성충 (adult) 발생시기동안 polyamine의 함량이 증가할 뿐만 아니라 (Hamana 등, 1989) 상승아치사온도에 노출시 우화율, 교미율, 산란율 및 부화율이 크게 감소하는 것으로 (Numata와 Hidaka, 1980; Bodnaryk과 Gerber, 1988; Osanai 등, 1989) 미루어 보아 polyamine이 난소발생에 중요한 역할을 수행할 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 담배나방 (*Helicoverpa assulta*)의 용 (pupa) 초기에 DFMO와 DFMA를 각각 혈강내로 주입한 후, 용-성충발생 기간 동안 난소를 적출하여 주요 polyamine 류인 putrescine, spermidine, spermine의 함량과 ODC 및 ADC의 활성도 변화를 조사하는 한편, 난세포 형성과정의 조직학적 변동을 관찰하여 난소발생에 미치는 저해제들의 효과를 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 실험곤충

담배나방 (*Helicoverpa assulta*)은 인공사료(옥수수가루, 콩가루, 고추씨기름, skim milk, yeast extract, multi-vitamine, agar)를 먹이로 온도  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 상대 습도  $60 \pm 5\%$ , 광주기 16L:8D 조건하에서 누대사육하였다. 저해제의 처리는 용(pupa) 2일에  $\alpha$ -difluoromethylornithine (DFMO)와  $\alpha$ -difluoromethylarginine (DFMA)를 각각  $30\mu\text{g}$ 씩 insect saline( $133\text{mM NaCl}$ ,  $1\text{mM CaCl}_2$ ,  $5\text{mM KCl}$ , pH 7.4)  $5\mu\text{l}$ 에 용해한 후 micro-glass syringe와 injection pump를 사용하여 복부 3번째 마디에 주입하였다. 대조군으로는 동량의 insect saline을 동시기에 주입한 개체를 사용하였다.

### 난소의 적출

대조군 및 저해제 처리군에서의 난소 적출은 해부 현미경하에서 용5, 6, 7, 8, 9일 및 성충 1일에서 적출하였으며 여분의 수분은 filter paper로 즉시 제거하여, 난소의 생체량을 측정한 후  $-70^\circ\text{C}$ 에서 사용시까지 보관하였다.

### 난소의 Polyamine의 정제 및 분석

각 단계별로 적출한 난소는 5% perchloric acid를 시료  $30\text{mg}$ 당  $100\mu\text{l}$ 를 가하여 finger disposable homogenizer (Sigma)를 사용하여 균질화시킨 후  $4^\circ\text{C}$ 에서  $3,500\text{g}$ 으로 10분 동안 원심분리 후 상등액을 취하였다. polyamine 정제는 Jeong 과 Kown (1996)의 방법에 따라 수행하였다.

Polyamine 분석은 Corbin 등 (1989)의 방법을 다소 변형시킨 Yoo 등 (1998)의 방법에 준하여 실시하였다. HPLC는 600E Multisolvant Delivery Pump의 Waters system을 이용하였고, U6K Injector와 474 Scanning Fluorescence Detector ( $338\text{nm}$  excitation/ $400\text{nm}$  emission) 및  $\mu$  Bondapak C18 ( $3.9 \times 300\text{mm}$ ) column을 사용하였다.

### ODC 및 ADC의 활성도 측정

ODC와 ADC의 활성도는 Russell과 Snyder (1968)의 방법 및 Anguillesi 등 (1990)의 방법을 일

부 변형하여 측정하였다. 즉, 발생단계별로 적출한 난소에 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4)를 가하여 균질화시킨 후, 4°C에서 5,000g으로 15분 동안 원심분리한 상등액 200 $\mu$ l를 5 $\mu$ l, 0.5 $\mu$  Ci L<sup>-1</sup> [1-<sup>14</sup>C] ornithine 또는 0.5 $\mu$  Ci L<sup>-1</sup> [1-<sup>14</sup>C] arginine과 500mM L-ornithine 또는 L-arginine이 들어 있는 glass vial에 가한 다음 hyamine hydroxide가 들어 있는 microtube를 넣은 후 rubber stopper로 밀폐시켜 37°C에서 30분간 incubation시켰다. 반응을 종결시키기 위하여 200 $\mu$ l TCA (trichloroacetic acid)용액을 가하여 다시 30분간 incubation시킨 후, 방출된 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>와 결합한 hyamine hydroxide를 Scintiverse E로 옮긴 다음 Scintillation Spectrometer (Beckman LS 6000LL)를 이용하여 방사능을 측정하였다. ODC와 ADC의 활성도 단위는 효소작용에 의하여 ornithine 혹은 arginine으로부터 방출된 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>의 양 (nmol)으로 환산하였다.

#### 난세포형성과정의 관찰

적출한 난소는 5시간 동안 Bouin's fluid에서 고정하였으며, 고정된 재료는 물로 수세한 후 탈수, 포매 그리고 절편을 제작하였다. 건조된 절편으로부터 paraffin을 제거하고 수세한 다음 hematoxyline과 eosin으로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

#### 결과 및 고찰

생물체에서 polyamine 생합성은 ornithine과 arginine으로부터 ODC와 ADC의 작용에 의해 이루어지나 종에 따라 합성경로는 다소 차이를 나타내며 (Smith, 1985; Pegg와 McCann, 1988), 곤충에서는 ODC의 작용에 의해서만 polyamine 생합성이 이루어지는 것으로 보고되었다 (Tabor와 Tabor, 1984; Birnbaum과 Gibert, 1990). 그러나 일부 연구자들 (Cheun 등, 1982; Jeong과 Kown, 1996)은 곤충에서 ADC가 존재하는 것으로 확인하였으나, 그 존재 여부에 대해서는 아직 확실히 밝혀지지 않았다.

발생시기 및 저해제 주입에 따른 난소의 생체량 변화여부를 알아보기 위해 발생 경과에 따라 난소의 생체량 변화를 측정한 결과, 담배나방의 정상발

생시 난소 생체량은 용 5일 이후 발생진행 정도와 더불어 지속적인 증가를 보였을 뿐 특정시기에서의 난소 생체량 증감은 없는 것으로 확인되었다 (Fig. 1). 저해제 (DFMO, DFMA)의 주입시 난소의 생체량은 성충기에 이르기까지 정상 발생군과 유사한 변화상을 보였으며, 용 9일과 성충기에서 DFMO 처리군에 비해 DFMA 처리군이 정상 발생군과 현격한 차이를 나타내었다 (Fig. 1). 이러한 결과는 장소에서와 마찬가지로 난소의 생체량이 DFMO보다 DFMA 주입시 영향이 큰 것으로 나타났다 (Jeong과 Kown, 1996).

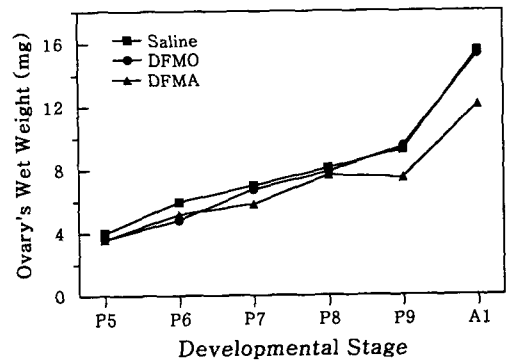


Fig. 1. Changes in ovary's wet weight during pupal-adult development of *Helicoverpa assulta* injected with insect saline and inhibitors. P5, 5-day old pupa; P6, 6-day old pupa; P7, 7-day old pupa; P8, 8-day old pupa; P9, 9-day old pupa; A1, 1-day old adult.

한편 ODC와 ADC의 활성도를 측정한 결과, 정상 발생군에서 ADC활성이 나타났으나 ODC활성에 비해 아주 낮은 수준을 나타냈으며 발생과정에 따라 ODC활성의 증가양상과는 상반된 경향을 보여 주었다 (Table 1). DFMO의 주입군에서는 ODC의 활성도가 크게 저해되었으며 DFMA의 주입군에서도 ADC의 활성도는 일부 시기에서 정상 발생군보다 낮은 수준을 나타내었다 (Table 2). 또한 저해제 처리시 난소에서의 putrescine 함량은 정상 발생군에 비해 현저하게 낮은 수준으로 감소되었으며 정상 발생군에서 진행되는 특정 시기에서의 상승현상은 저해제 주입군에서는 그 상승 폭이 크지 않거나

담배나방의 난소발생시 폴리아민 합성효소에 미치는 저해제의 효과

Table 1. ODC and ADC activities of ovary during pupal-adult development of *Helicoverpa assulta* injected with insect saline

Developmental Stage	ODC		ADC	
	Activity/ovaries <sup>a</sup>	Activity/mg <sup>b</sup>	Activity/ovaries <sup>a</sup>	Activity/mg <sup>b</sup>
5-day old pupa	2161±119	544±43	575±24	145±3
6-day old pupa	4165±218	700±39	520±22	87±3
7-day old pupa	5182±179	743±37	454±17	65±8
8-day old pupa	6922±312	857±53	289±11	36±2
9-day old pupa	9186±427	991±40	245±13	26±2
1-day old adult	12809±988	828±42	274±14	18±1

Each value represents the mean±SD obtained from three replicate experiments in 14 ovaries. Enzyme activity represents nmol <sup>14</sup>C<sub>2</sub>O<sub>2</sub> liberated/hour. ODC, ornithine decarboxylase; ADC, arginine decarboxylase; a, nmol/14 ovaries; b, nmol/mg wet weight

Table 2. ODC and ADC activities of ovary during pupal-adult development of *Helicoverpa assulta* injected with inhibitors

Inhibitors	Developmental Stage	ODC		ADC	
		Activity/ovaries <sup>a</sup>	Activity/mg <sup>b</sup>	Activity/ovaries <sup>a</sup>	Activity/mg <sup>b</sup>
DFMO	5-day old pupa	829±32	231±1	292±11	82±2
	6-day old pupa	826±36	172±7	265±10	51±1
	7-day old pupa	1229±50	183±5	253±11	43±1
	8-day old pupa	1438±38	183±9	250±13	33±1
	9-day old pupa	3621±88	383±11	223±13	30±1
	1-day old adult	6669±199	437±10	352±13	27±1
DFMA	5-day old pupa	2090±12	582±2	672±43	188±11
	6-day old pupa	591±4	123±1	505±22	98±3
	7-day old pupa	1281±1	190±1	218±11	37±2
	8-day old pupa	1380±10	176±1	324±27	42±2
	9-day old pupa	5201±38	550±2	223±13	30±2
	1-day old adult	9681±99	634±4	2350±117	195±11

Each value represents the mean±SD obtained from three replicate experiments in 14 ovaries. Enzyme activity represents nmol <sup>14</sup>C<sub>2</sub>O<sub>2</sub> liberated/hour. ODC, ornithine decarboxylase; ADC, arginine decarboxylase; DFMO, α-difluoromethylornithine; DFMA, α-difluoromethylarginine; a, nmol/14 ovaries; b, nmol/mg wet weight

전혀 일어나지 않는 것으로 나타났다 (Table 3, 4). 따라서 저해제 주입시 난소에서 생합성 효소들의 활성이 저해되는 현상과 잘 부합되는 상관성을 보

였다. 난소의 spermidine 함량은 DFMO와 DFMA의 처리시 모두 용 5일 이후의 전 시기에 걸쳐 전반적으로 정상 발생군에서 보다 약간 낮은 값을 나타내

나 spermine의 함량은 특정 시기에서 정상 발생군 보다 높은 수준으로 상승하는 현상을 보였다 (Table 3, 4). 이는 이 기간 동안 저해제의 주입에 의해 정상 발생군에서 보다 난소의 생체량이 더 높은 수준으로는 증가하지 않음에도 불구하고 더 높은 spermine 수준을 나타낸것은 ODC나 ADC의 활

Table 3. Putrescine, spermidine, and spermine contents of ovary during pupal-adult development of *Helicoverpa assulta* injected with insect saline

Developmental Stage	Mean±SD/ovaries <sup>a</sup>			Mean±SD/mg <sup>b</sup>		
	putrescine	spermidine	spermine	putrescine	spermidine	spermine
5-day old pupa	755.3±17.4	7.13±0.06	1.49±0.09	240.3±14.4	2.26±0.17	0.47±0.04
6-day old pupa	87.6±7.9	5.86±0.23	1.76±0.28	15.8±0.6	1.06±0.11	0.32±0.05
7-day old pupa	100.9±5.1	13.38±1.22	2.94±0.88	17.8±0.7	2.36±0.22	0.52±0.06
8-day old pupa	514.4±36.0	6.68±0.07	1.91±0.25	74.2±3.0	0.96±0.06	0.27±0.07
9-day old pupa	98.2±23.0	11.48±0.96	4.48±0.40	11.3±0.7	1.32±0.21	0.52±0.09
1-day old adult	213.0±13.4	50.18±3.26	7.85±0.94	14.8±0.7	3.49±0.61	0.55±0.08

\* Each value represents the mean±SD obtained from three replicate experiments in 14 ovaries.  
a, nmol/14 ovaries; b, nmol/mg wet weight

Table 4. Putrescine, spermidine, and spermine contents of ovary during pupal-adult development of *Helicoverpa assulta* injected with inhibitors

Inhibitors	Developmental Stage	Mean±SD/ovaries <sup>a</sup>			Mean±SD/mg <sup>b</sup>		
		putrescine	spermidine	spermine	putrescine	spermidine	spermine
DFMO	5-day old pupa	55.5±0.7	4.25±0.04	3.07±0.26	18.0±0.5	1.38±0.09	0.99±0.07
	6-day old pupa	70.7±5.7	5.41±0.19	3.41±0.16	15.9±0.6	1.22±0.08	0.76±0.13
	7-day old pupa	63.4±2.1	7.29±0.98	3.34±1.10	11.3±1.0	1.31±0.11	0.60±0.09
	8-day old pupa	156.4±7.1	5.50±0.05	3.67±0.78	18.4±12.1	0.65±0.04	0.43±0.14
	9-day old pupa	57.2±10.9	11.58±0.93	4.51±0.51	5.2±0.2	1.06±0.17	0.41±0.11
	1-day old adult	136.2±2.3	46.49±2.17	14.77±1.86	8.8±0.1	3.15±0.56	0.95±0.14
DFMA	5-day old pupa	98.0±4.1	6.41±0.18	1.97±0.09	28.4±0.6	1.86±0.04	0.57±0.02
	6-day old pupa	97.4±3.0	3.39±0.09	1.93±0.07	23.0±0.1	0.80±0.03	0.45±0.01
	7-day old pupa	88.8±2.0	6.94±0.21	1.82±0.06	15.6±0.4	1.22±0.04	0.32±0.01
	8-day old pupa	61.5±1.7	3.65±0.09	1.63±0.03	8.4±0.3	0.50±0.05	0.22±0.01
	9-day old pupa	75.4±2.3	3.49±0.11	2.92±0.10	10.7±0.2	0.49±0.04	0.41±0.02
	1-day old adult	95.5±2.0	52.18±2.03	11.81±0.54	8.3±0.4	4.55±0.06	1.03±0.07

Each value represents the mean±SD obtained from three replicate experiments in 14 ovaries.

DFMO, α-difluoromethylornithine; DFMA, α-difluoromethylarginine; a, nmol/14 ovaries; b, nmol/mg wet weight

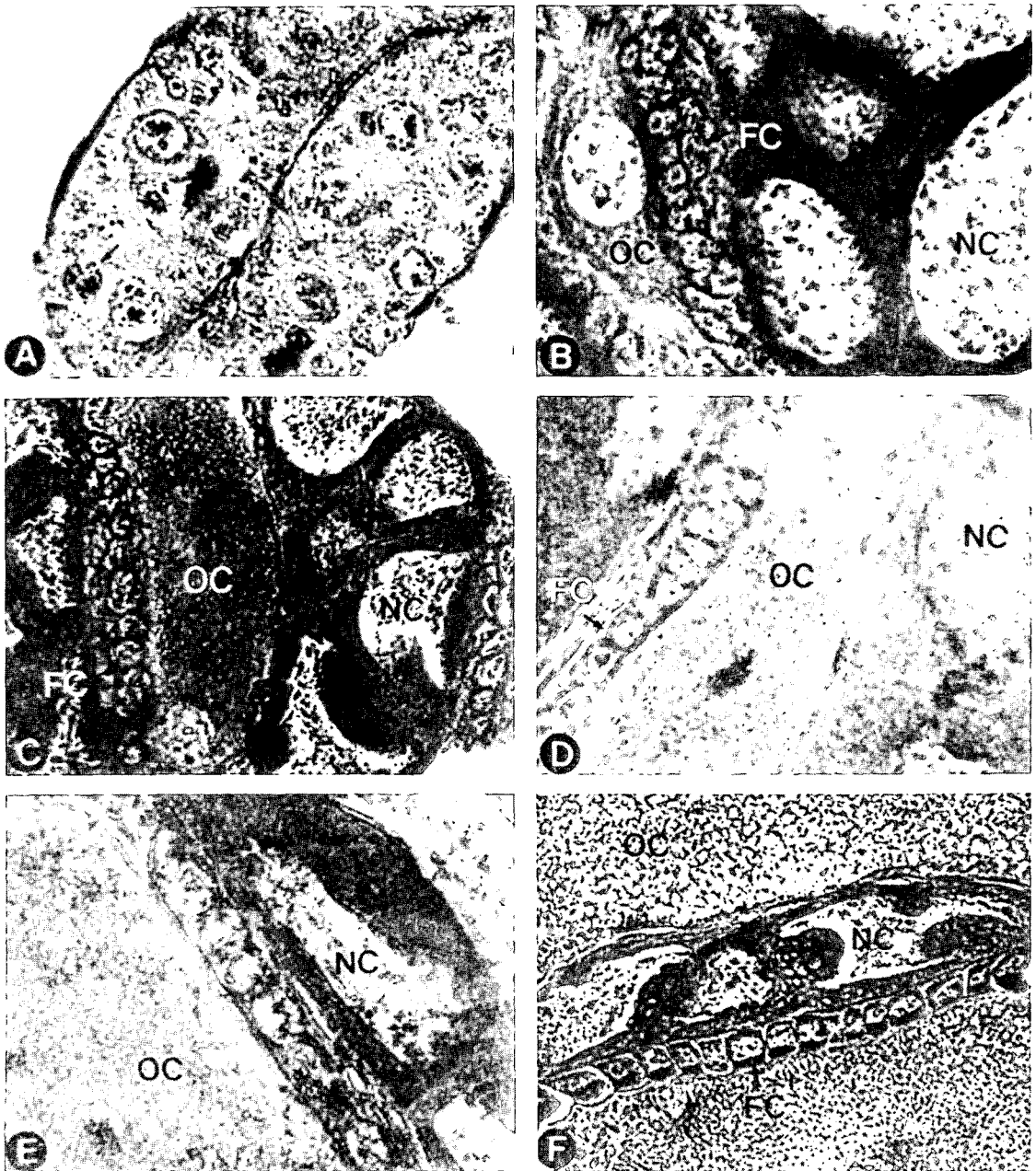


Fig. 2. Light microphotographs(longitudinal section) of ovariole during pupal-adult development of *Helicoverpa assulta* injected with insect saline at 2-day old pupa. CC, cystocyte; FC, follicle cells; NC, nurse cells; OC, oocyte; A, 5-day old pupa ( $\times 460$ ); B, 6-day old pupa ( $\times 450$ ); C, 7-day old pupa ( $\times 450$ ); D, 8-day old pupa ( $\times 630$ ); E, 9-day old pupa ( $\times 450$ ); F, 1-day old adult ( $\times 430$ ).

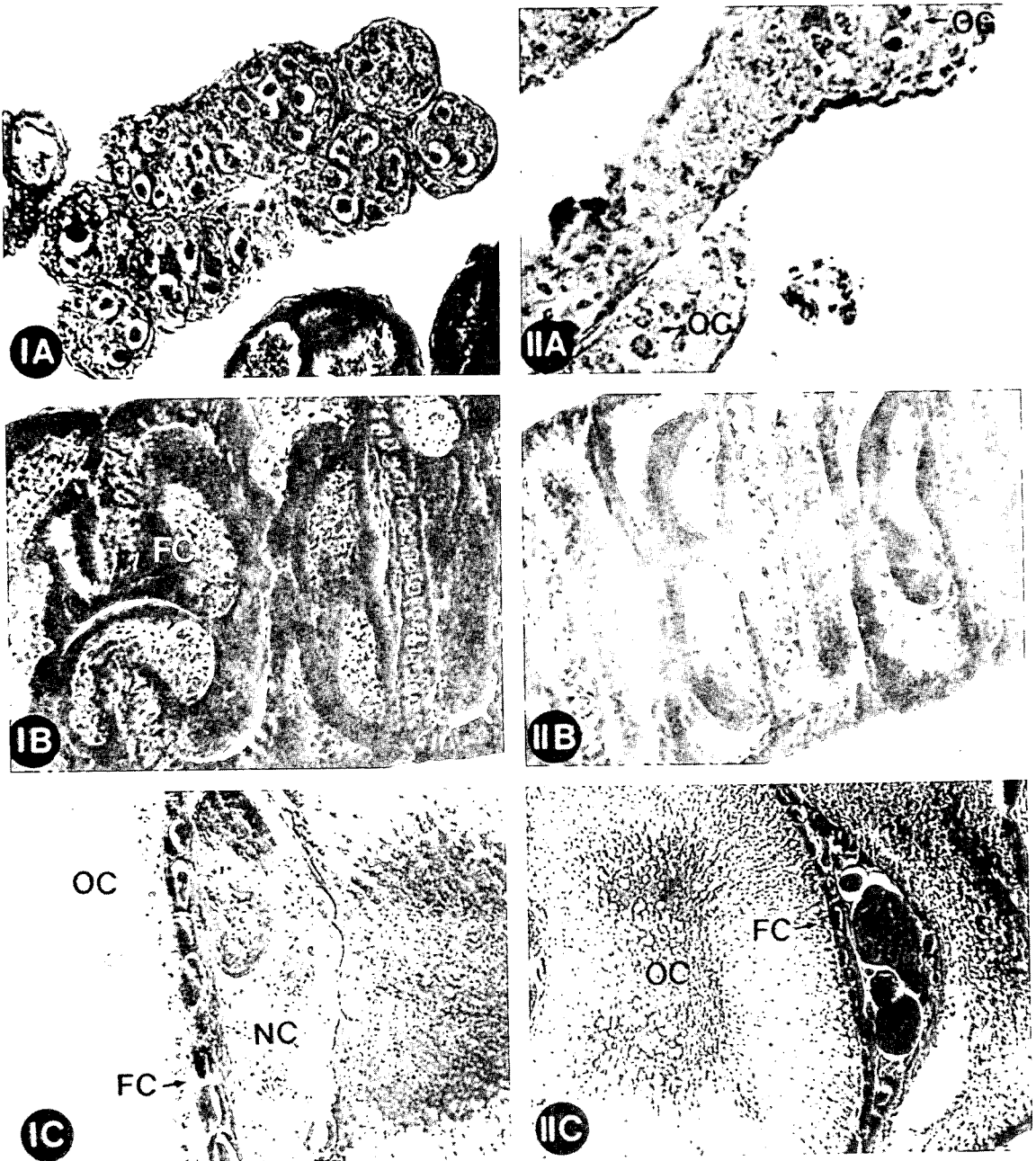


Fig. 3. Light microphotographs(longitudinal section) of ovariole during pupal-adult development of *Helicoverpa assulta* injected with inhibitors (DFMO, DFMA) at 2-day old pupa. I, DFMO-injected; II, DFMA-injected; IA, 5-day old pupa( $\times 475$ ); IB, 7-day old pupa( $\times 430$ ); IC, 1-day old adult( $\times 460$ ); IIA, 5-day old pupa( $\times 470$ ); IIB, 7-day old pupa( $\times 490$ ); IIC, 1-day old adult( $\times 470$ ).

성이 저해되어 putrescine 합성율이 감소되더라도 putrescine이 아닌 다른 전구물질에 의해 spermine이 합성될 것으로 추측되며 polyamine 관련 대사물들은 cadaverine, 1,3-diaminopropane, norspermidine, norspermine 등도 존재하는 것으로 보고되었는 바 (Herbst와 Dion, 1970; Heby, 1972; Hamana 등, 1989), 이에 대한 연구는 앞으로 더 수행되어야 할 것으로 생각된다.

한편 저해제 (DFMO, DFMA)의 처리시 난소발생에 미치는 영향을 조직학적으로 관찰하기 위하여 발생단계별로 난소의 광학현미경적 관찰을 실시한 결과, 난소발생이 지연되거나 비정상적인 발생상이 나타났으며, polyamine 생합성 효소 (ODC, ADC)의 경우와 마찬가지로 DFMA보다 DFMO가 훨씬 더 강한 억제효과를 나타내었다. 정상 발생군 용 5일에서 나타나지 않는 난원세포들과 비정상적이고 불규칙한 모양의 영양세포들이 저해제의 주입시에는 많이 관찰되었으며, 용 7일에는 불완전한 여포상피세포의 분화로 인해 손상된 상태의 여포상피세포들이 관찰되었다. 성충에서는 정상 발생시 난황축적현상과 더불어 생체량이 급증되는데 (Hopkins와 King, 1996), 저해제 주입군에서는 낮은 생체량을 나타낸 결과와 마찬가지로 난황축적물의 조밀도가 감소하였으며 영양세포 역시 정상발생군에서 보다 빠르게 퇴화되는 것으로 관찰되었다 (Figs. 2, 3). 이러한 결과는 저해제 (DFMO, DFMA)의 처리시 생식세포의 발생지연 및 비정상적 발달이 유도되기 때문인 것으로 생각된다.

## 결 론

담배나방 (*Helicoverpa assulta*) 용-성충 발생동안 polyamine 합성효소 억제제인  $\alpha$ -difluoromethylornithine (DFMO)과  $\alpha$ -difluoromethylarginine (DFMA)의 난소에 미치는 효과를 분석하였다. 두 가지 저해제 모두 난소 발달에 대한 명확한 저해효과를 나타내는 것으로 밝혀졌으며 난소의 생체량은 DFMO보다 DFMA에 의해 더 현저히 감소하는 것으로 나타났다. DFMO 또는 DFMA의 주입 후 72시간 (용 5일) 후에서 ODC (ornithine decarboxylase)와 ADC (arginine decarboxylase)의 활성도가 각각 특이하

게 증가하였으나, 96시간(용 6일) 이후에서는 효소 활성이 명확히 저해되었다. 난소의 putrescine함량은 두 가지 저해제에 의해 모두 감소하는 것으로 나타났다. spermidine은 각 저해제들의 작용에 의해 약간의 감소를 나타내나 각 저해제의 주입시 spermine의 수준이 난소에서 증가되는 흥미있는 현상이 관찰되었다.

그러나 난세포 형성과정은 DFMO는 물론 그 정도는 약하나 DFMA에 의해서도 저해되는 것으로 나타났으며, 난소발생의 전반적인 지연현상과 함께 세포분화가 비정상적으로 진행되어 용기에서는 불규칙한 형태의 영양세포들의 출현과 여포상피세포의 부분적인 파괴가 관찰되었고, 성충기에서는 신속한 영양세포의 퇴화 및 여포상피세포의 축소와 함께 난황의 조밀도가 낮은 미성숙 난세포가 관찰되었다.

## 참 고 문 헌

- Anguillesi, M. C., I. Grilli, R. Tazziolo and C. Floris (1990) Polyamine accumulation in aged wheat seeds. *Biologia Plantarum (PRAHA)*. 32:189-197.
- Birnbaum M. J. and L. I. Gilbert (1990) Juvenile hormone stimulation of ornithine decarboxylase activity during vitellogenesis in *Drosophila melanogaster*. *J. Comp. Physiol.* 160B:145-151.
- Bodnaryk R. P. and G. H. Gerber (1988) Inhibition of spermatogenesis of eupyrene spermatozoa by elevated, sublethal temperatures during pupal-adult development of the bertha armyworm, *Mamestra configurata* Wlk. (Lepidoptera: Noctuidae). *Invert. Repro. Develop.* 13:65-84.
- Bulfileld, G., Isaacson J. H and R. J. Middleton (1988) Biochemical correlates of selection for weight for age in chickens ; Twenty-fold higher muscle ornithine decarboxylase level in modern broilers. *Theor. Appl. Genet.* 75: 432-437.
- Cheun, K. Y., V. Presepe, N. Parken and A. Y. C.



- Liu (1982) Changes of ornithine decarboxylase activity and polyamine content upon differentiation of mouse NB-15 neuroblastoma cells. *J. Cell. Physiol.* 110:285-290.
- Corbin, J. L., B. H. March and G. A. Peter (1989) An improved method for analysis of polyamines in plant tissue by precolumn derivatization with o-phthalaldehyde and separation by high performance liquid chromatography. *Plant Physiol.* 90:434-439.
- Golden, J. A., A. Sjoerdsma and D. V. Santi (1984) *Pneumocystis carinii* pneumonia treated with  $\alpha$ -difluoromethylornithine. *West. J. Med.* 141:613-623.
- Hamana K., M. Suzuki, T. Wakabayashi and S. Matsuzaki (1989) Polyamine levels in the gonads, sperm and salivary gland of cricket, cockroach, fly and midge. *Comp. Biochem. Physiol.* 92B:691-695.
- Herbst E. J. and D. Dion (1970) polyamine changes during development of *Drosophila melanogaster*. *Fed. Proc.* 29:1563-1567.
- Heby, O. (1972) Polyamine variations during postembryonic development of the blowfly *Calliphora erythrocephala*. *Insect Biochem.* 2: 15-22.
- Hopkins, C. R. and P. E. King (1996) An electronmicroscopical and histochemical study of the oocyte periphery in *Bombus terrestris* during vitellogenesis. *J. Cell Sci.* 1:201-216.
- Jeong, S. E. and S. B. Kown (1996) Effect of inhibitors on polyamine metabolism during spermatogenesis of *Helicoverpa assulta*. *Korean J. Entomol.* 26(4):299-311.
- Koenig, H., A. D. Goldstone and C. Y. Lu (1989) Blood-brain barrier breakdown in coldinjured brain is linked to a biphasic stimulation of ornithine decarboxylase activity and polyamine synthesis : Both are coordinately inhibited by verapamil, dexamethasone, and aspirin. *J. Neurochem.* 45:101-109.
- McCann, P. P., C. J. Bacchi, A. B. Clarkson, P. Bey, A. Sjoerdsma, P. J. Schechter, P.D. Walzer and J. L. Barlow (1986) Inhibition of polyamine Biosynthesis by  $\alpha$ -difluoromethylornithine in african trypanosomes and *Pneumocystis carinii* as a basis of chemotherapy : Biochemical and clinical aspects. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 35:1153-1156.
- Numata, H and T. Hidaka (1980) Development of male sex cells in swallowtail, *Papilio xuthus* L.(Lepidoptera: papilionidae) in relation to pupal diapause. *Appl. Ent. Zool.* 15(2):151-158.
- Osanai, M., H. Kasuga and T. Aigaki (1989) Isolation of eupyrene sperm bundles and apyrene spermatozoa from seminal fluid of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* 35(5):401-408.
- Pegg, A. E. and P. P. McCann (1988) Polyamine metabolism and function mammalian cells and protozoans. *Biochem.* 27:11-18.
- Russell, D. H. and S. H. Snyder (1968) Amine synthesis in rapidly growing tissues: ornithine decarboxylase activity in regenerating rat liver, chick embryo, and various tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 60:1420-1427.
- Sjoerdsma, A. and P. J. Schechter (1984) Chemotherapeutic implications of polyamine biosynthesis inhibition. *Clinic. Pharmacol. Therap.* 35:287-300.
- Sjoerdsma, A., J. A. Golden, P. J. Schechter, J. L. R. Barlow and D. V. Santi (1984) Successful treatment of lethal protozoal infections with the ornithine decarboxylase inhibitor  $\alpha$ -difluoromethylornithine. *Trans. Assoc. Am. Phys.* 10C (7):70-79.
- Smith, T. A. (1985) Polyamine. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 36:117-143.
- Sparks, R. B., D. Vaske Jr., S. Lilleberg and R. A. Leopold (1991) Temporal expression of ornithine decarboxylase in developing embryos of *Musca domestica* L. *Arch. Insect Biochem.*

담배나방의 난소발생시 폴리아민 합성효소에 미치는 저해제의 효과

*Physiol.* 16:177-187.

Tabor, C. and H. Tabor (1984) *Polyamines Annu. Rev. Biochem.* 53:749-790.

Yoo, C. M., S. H. Kim., Y. H. La. and S. Jeong

(1998) Effects of elevated sublethal temperature on polyamine metabolism in testis of *Helicoverpa assulta*. *Korean J. Entomol.* 28(3): 227-236.