

## 국내 토착 곤충의 항혈전 비교

김현애<sup>1</sup> · 이상한<sup>2</sup> · 최영철<sup>1</sup> · 박관호<sup>1</sup> · 황재삼<sup>1</sup> · 김남정<sup>1</sup> · 남성희<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부 곤충산업과, <sup>2</sup>경북대학교 농업생명과학대학 식품공학부

## Comparison of fibrinolytic activity from Korean indigenous insects

Hyunae Kim<sup>1</sup>, Sang Han Lee<sup>2</sup>, Youngcheol Choi<sup>1</sup>, Kwanho Park<sup>1</sup>, Jaesam Hwang<sup>1</sup>, Namjung Kim<sup>1</sup> and Sunghee Nam<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-853

<sup>2</sup>School of Food Science & Biotechnology, College of Agriculture and Life Sciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701

(Received September 08, 2013, Accepted October 23, 2013)

### ABSTRACT

The fibrinolytic activity of aqueous extracts from Korean indigenous insects were studied. Fibrinolytic activity of aqueous extract from 5 insects (larva and adult parts of *Meloimorpha japonica*, *Allomyrina dichotoma*, *Cetonia pilifera*, *Apis mellifera*) showed 2.7-fold potent than that of plasmin used as a positive control. In addition, the fibrinolytic activity was observed through the degradation products by SDS-PAGE. The extracts efficiently hydrolyzed  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$  chains of human fibrinogen. This study suggested that aqueous extracts from Korean indigenous insects have potential in developing a useful source of antithrombosis agent(s).

**Key words :** Antithrombosis, Indigenous insects, Fibrinolytic activity

### 서 론

현재 우리나라는 서구화된 식습관, 인구의 고령화에 따라 심혈관계 질환이 급격히 증가하고 있다. 심혈관계 질환의 대표적 증상인 혈전증은 내인성 또는 외인성 요인에 의해 비정상적으로 혈전이 증가하여 정상 혈류를 방해하는 원인이 된다. 특히 이러한 혈전이 심장 또는 뇌에서 나타나는 경우 심근경색증, 뇌졸중, 폐동맥 경색증 등의 심각한 질환으로 나타나기도 한다(Ryu et al. 2008).

혈전의 생성은 혈관의 손상에 따른 출혈로 인해 시작된다. 혈액의 응고 기작은 혈관 벽에 혈소판이 점착, 응집하여 혈소판 혈전을 형성하는 것으로부터 혈액응고계가 활성화 된다. 그 중, thrombin의 활성화는 가장 중요하고 최종적인 반응이다. 활성화된 thrombin의 작용으로 인해 fibrinogen이 불용성의 격자 중합체를 형성함으로써 fibrin 혈전이 생성된다. 혈전이 모세혈관이나 뇌혈관 등에 축적이 되면 혈액 순환을 방해하여 각 조직으로의 영양분 및 산소 공급이 중단되고 혈압의 증가를 야기시킨다. 이렇게

생성된 혈전들은 상처복구 후에 분해되지 않은 채 혈관 내를 순환하게 되어 심혈관 질환의 위험요인이 된다(Butenas and Mann 2002, Yun-Choi et al. 1995, Yun et al. 1996).

현재 상용되고 있는 혈전용해제는 tissue plasminogen activator(t-PA), urokinase, streptokinase, staphylokinase 등이 있으며, 이들 중에서 urokinase만이 경구투여가 가능하다. t-PA의 경우 반감기가 짧은 단점이 있으며, 이 용해제들은 혈전에 대한 선택성이 낮아 전신출혈 및 알레르기 반응 등의 부작용과 가격이 비싼 단점이 있다(Baruah et al. 2005, Choi et al. 2013). 이러한 이유로 경제적이고 안전한 혈전용해제에 관한 연구의 필요성이 대두되고 있다.

생물자원에 대한 관심과 연구는 주로 안전성에 근거를 두어 한약재 또는 식품에 집중되어 있었으나, 곤충의 다양성과 활용성으로 인해 유용 곤충의 이용에 대한 관심도가 증가하고 있다. 곤충은 전 세계적으로 어디에나 존재하며 180만종이 알려져 있고, 국내에서도 12,000종 이상이 서식하고 있다(Ryu et al. 2008). 곤충에 관한 연구로는 귀뚜라미 추출물의 간 보호 및 항피로 효과(Ahn et

\*Corresponding author. E-mail: creative716@korea.kr

al. 2002a), 무당벌레의 항산화·염증효과(Han et al. 2006, Heo et al. 2006, Park et al. 2005) 등이 보고되었고, 항혈전 효과로는 선택(흑매미 우화허물), 자충(바퀴벌레), 상포초(사마귀알집), 홍랑자(매미) 등의 중국 시판 곤충에서 활성을 나타내었다(Hahn et al. 1999). 또한, 중국시판 곤충을 포함하는 곤충시료 추출물 중 동충하초, 버메뚜기, 전갈의 물 추출물에서 항트롬빈 활성이 보고되었고(Ahn et al. 2002b), 침노린재과의 흡혈곤충들에서 혈전생성 억제 활성(Morota et al. 2006, Noeske-Junqblut et al. 1994)이 보고되어 곤충자원의 약용생물자원 및 기능성 식품소재로 개발이 가능함을 제시하고 있다. 이에 본 연구에서는 국내 유용곤충을 대상으로 혈전 용해능을 탐색하고 유용곤충의 활용성에 대한 기초자료로 활용하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료 준비 및 조제

시험곤충은 메뚜기목(*Orthoptera*), 딱정벌레목(*Coleoptera*), 벌목(*Hymenoptera*), 파리목(*Diptera*) 등 국내 서식종 28점으로 국립농업과학원 곤충산업과 사육 또는 보존 종이다. 분석에 사용된 메뚜기목은 귀뚜라미(*Velarifictorus aspersus*), 방울벌레(*Velarifictorus aspersus*), 메뚜기(*Oxya japonica japonica*)이며, 딱정벌레목에는 거저리(*Neatus ventralis*), 장수풍뎡이(*Allomyrina dichotoma*), 꽃무지(*Cetonia pilifera*), 울도하늘소(*Psacothaea hiliaris*), 벌목에는 꿀벌(*Apis mellifera*), 서양뒤영벌(*Bombus terrestris*), 파리목에는 동애등애(*Hermetia illucens*)를 이용하였고, 기타 밀웜(*Zophobas morio*), 거미(*Hirudinea*), 지네(*Centipede*), 동충하초(*Paecilomyces tenuipes*)를 분석에 이용하였다. 시험곤충은 성장단계 중 유충, 번데기 또는 성충시기로 각각 구분하였다(Table 1).

각 시료는 e-tube에 100 mg을 넣고 마쇄하여 균질화 한 후 증류수 및 70% 에탄올을 1.2 mL 넣고 24시간 동안 상온에서 교반기를 이용하여 추출한 후 원심분리를 13,200 rpm, 30분 조건으로 처리하였다. 추출물은 동결건조 하여 분말화한 후, 증류수 또는 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹인 후 100 mg/mL 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

### 2. 혈전 용해능 측정을 위한 fibrin plate 제조

Astrup과 Mullertz의 fibrin plate 법(Astrup and Mullertz 1952)을 응용하였고, 혈액 응고 효소인 thrombin(T6884, Sigma, St. Louis, MO, USA)과 응고에 관여하는 단백질인 fibrinogen(F4883, Sigma)을 사용하였다. Thrombin은 20 U/mL, fibrinogen은 0.5% (w/v) 농도로 PBS에 용해시켜 사용하였다. 12 well plate에 thrombin 100  $\mu$ L를 처리 후 fibrinogen 1 mL을 잘 혼합하여 기포가 생기지 않도록 넣

**Table 1.** A list of insect used in this study

Sample no.	Order	Species of insect	Developmental stage
1	Orthoptera	<i>Velarifictorus aspersus</i> (Walker)	Larva
2		<i>Velarifictorus aspersus</i> (Walker)	Adult
3		<i>Meloimorpha japonica</i>	Larva
4		<i>Meloimorpha japonica</i>	Adult
5		<i>Oxya japonica japonica</i>	Adult
6		<i>Oxya japonica japonica</i>	Adult
7	Coleoptera	<i>Neatus ventralis</i>	Larva
8		<i>Neatus ventralis</i>	Pupa
9		<i>Allomyrina dichotoma</i>	Larva
10		<i>Allomyrina dichotoma</i>	Adult
11		<i>Cetonia pilifera</i>	Larva
12		<i>Cetonia pilifera</i>	Adult
13	Hymenoptera	<i>Psacothaea hiliaris</i>	Larva
14		<i>Psacothaea hiliaris</i>	Adult
15		<i>Apis mellifera</i>	Larva
16		<i>Apis mellifera</i>	Pupa
17		<i>Bombus terrestris</i>	Larva
18		<i>Bombus terrestris</i>	Pupa
19	Diptera	<i>Bombus terrestris</i>	Adult
20		<i>Hermetia illucens</i>	Larva
21		<i>Hermetia illucens</i>	Pupa
22		<i>Zophobas morio</i>	Larva
23		<i>Zophobas morio</i>	Pupa
24		<i>Hirudinea</i>	Adult
25	Etc.	<i>Centipede</i>	Adult
26		<i>Paecilomyces tenuipes</i>	Fruit body
27		<i>Paecilomyces tenuipes</i>	Host
28		<i>Paecilomyces tenuipes</i>	Synemata

고, 완전히 밀봉하여 건조 오븐에 37°C에서 1시간 동안 반응시켜 fibrin 막을 만들었다. Fibrin 막 위에 종이막(8 mm, thick)을 올려놓고 각 50 mg/mL, 10 mg/mL 및 1 mg/mL의 농도의 시료 30  $\mu$ L를 흡수가 용이하도록 천천히 점적한 후, 37°C에서 24시간 반응 시켰다. 효소에 의해 용해된 fibrin막의 용해면적을 측정하여 plasmin에 의한 용해 면적과의 상대적인 활성을 측정하였다.

### 3. Fibrin 분해산물의 단백질 정량

SDS-PAGE를 위한 fibrin 분해산물의 단백질의 농도 측정은 Bradford(Bradford 1976) 방법에 의해 단백질 정량 kit (Bio-Rad, USA)를 사용하여 OD595에서 흡광도를 조사하였으며, 표준단백질로는 bovine serum albumin(BSA)(0-

2000 ug/mL)을 사용하였다. 단백질 정량 kit의 방법에 따라 fibrin 분해산물을 증류수로 5배 희석한 후 96 well plate에 시료와 dye reagent를 넣고 흡광도를 측정하여 계산하였다.

#### 4. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis

단백질의 전기영동은 Laemmli의 방법(Laemmli 1970)을 변형하여 실험하였다. 정제한 효소 용액을 0.06 M Tris-HCl (pH 6.9), 2% (w/v) sodium dodecyl sulfate, 5% (w/v)  $\beta$ -mercaptoethanol, 10% (w/v) glycerol과 0.001% (w/v) bromophenol blue를 혼합한 변성시약과 혼합 후, 100°C 물

에서 중탕하여 5분간 가열하였다. 이 시료와 표준 단백질 시료를 5% acrylamide로 된 stacking gel 과 10% acrylamide로 된 separating gel을 사용하여 전기영동을 하였다. 각 시료의 단백질 양은 15 ug으로 조정하고, 전기영동 후 coomassie brilliant blue 용액으로 30분간 염색하였다.

## 결과 및 고찰

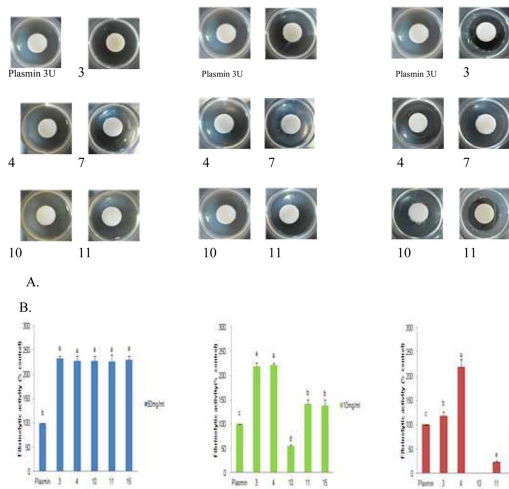
### 1. Fibrin plate를 이용한 혈전 용해 활성 측정 결과

Fibrin plate의 용해실험 결과는 Table 2에 나타내었다.

**Table 2.** Fibrinolytic activity on the fibrin plate from extracts of insects

No.	Species of insect	Developmental stage	Fibrinolytic activity (% of control)	
			70% EtOH extract	Aqueous extract
Control	<sup>1)</sup> Plasmin	-	100	
1	<i>Velarifictorus aspersus</i> (Walker)	Larva	9.5	54.6
2	<i>Velarifictorus aspersus</i> (Walker)	Adult	21.4	16.6
3	<i>Meloimorpha japonica</i>	Larva	23.8	237.5
4	<i>Meloimorpha japonica</i>	Adult	20.2	237.5
5	<i>Oxya japonica japonica</i>	Adult	49.9	16.6
6	<i>Oxya japonica japonica</i>	Adult	35.6	21.4
7	<i>Neatus ventralis</i>	Larva	20.2	173.4
8	<i>Neatus ventralis</i>	Pupa	21.4	0.0
9	<i>Allomyrina dichotoma</i>	Larva	17.8	142.5
10	<i>Allomyrina dichotoma</i>	Adult	19.0	237.5
11	<i>Cetonia pilifera</i>	Larva	16.6	237.5
12	<i>Cetonia pilifera</i>	Adult	23.8	192.4
13	<i>Psacothaea hilaris</i>	Larva	38.0	61.8
14	<i>Psacothaea hilaris</i>	Adult	23.8	237.5
15	<i>Apis mellifera</i>	Larva	26.1	237.5
16	<i>Apis mellifera</i>	Pupa	23.8	40.4
17	<i>Bombus terrestris</i>	Larva	28.5	220.9
18	<i>Bombus terrestris</i>	Pupa	27.3	0.0
19	<i>Bombus terrestris</i>	Adult	47.5	159.1
20	<i>Hermetia illucens</i>	Larva	42.8	118.8
21	<i>Hermetia illucens</i>	Pupa	42.8	0.0
22	<i>Zophobas morio</i>	Larva	29.7	0.0
23	<i>Zophobas morio</i>	Pupa	35.6	0.0
24	<i>Hirudinea</i>	Adult	29.7	0.0
25	<i>Centipede</i>	Adult	35.6	0.0
26	<i>Paecilonyces tenuipes</i>	Fruit body	24.9	0.0
27	<i>Paecilonyces tenuipes</i>	Host	26.1	0.0
28	<i>Paecilonyces tenuipes</i>	Synemata	24.9	0.0

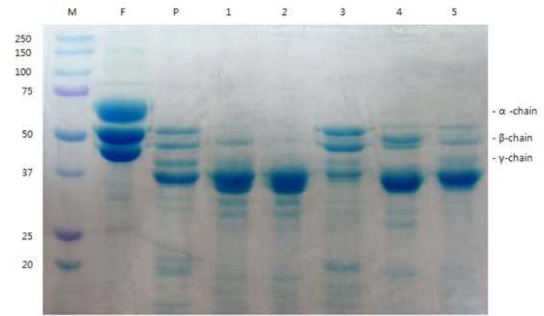
<sup>1)</sup>Plasmin was used as a positive control.



**Fig. 1.** Fibrinolytic activity of insect extracts analyzed by dose-dependent A, fibrin plate; B, fibrinolytic activity. The human fibrin clot was incubated with extracts at different sample: larva part of *Meloimorpha japonica* (sample no. 3; 50, 10, 1 mg/mL); adult part of *Meloimorpha japonica* (sample no. 4; 50, 10, 1 mg/mL); adult part of *Allomyrina dichotoma* (sample no. 10; 50, 10, 1 mg/mL); larva part of *Cetonia pilifera* (sample no. 11; 50, 10, 1 mg/mL); larva part of *Apis mellifera* (sample no. 15; 50, 10, 1 mg/mL) at 37°C for 24 h. Plasmin was used as a positive control. The data is represented as a mean  $\pm$  SD of three independent experiments. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  after Duncan's multiple range test.

대조군으로 사용한 plasmin (3 U/mL)의 용해능을 100% 기준으로 하여 곤충 추출물 (50 mg/mL)의 혈전용해 활성을 나타내었다. 각 곤충시료의 70% 에탄올 추출물의 혈전용해 활성 실험 결과, 대조군을 기준으로 하였을 때 9.5-49.9% 정도로 활성이 낮았다. 그러나 물 추출물의 경우 방울벌레 유충 및 성충(시료 3, 4), 장수풍뎅이 성충(시료 10), 꽃무지 유충(시료 11), 울도하늘소 성충(시료 14), 꿀벌 유충(시료 15)의 물 추출물에서 plasmin의 용해능 대비 237.5%의 활성으로 대조군 보다 2.7배 이상의 혈전 용해 활성을 나타내었다. 본 결과는 Ahn et al.(2002b)의 연구에서 plasmin의 용해능 대비 쇠뿔구리(2배), 홍랑자(2.3배), 풍뎅이(2배), 벼메뚜기(1.8배)의 혈전용해 실험 결과보다 높은 활성도를 나타내었다. 이는 혈전 용해 활성 물질이 에탄올 보다는 물에 잘 용해되는 것에 기인한 것으로 사료된다.

혈전 용해능이 높은 방울벌레 유충과 성충(시료 3, 4), 장수풍뎅이 성충(시료 10), 꽃무지 유충(시료 11), 꿀벌 유충(시료 15)의 물 추출물의 농도별 혈전 용해 활성을 측정하였다. 50 mg/mL, 10 mg/mL 및 1 mg/mL의 농도 처리 후 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 그 결과 Fig. 1의 A에서와 같이 대조군으로 사용한 plasmin과 비교하였을 때 50 mg/mL의 농도에서 fibrin plate를 완전 용해한 것으로 나타났다. 10 mg/mL 농도에서의 혈전 용해 활성은 고농



**Fig. 2.** Fibrinolytic activity of insect extracts. All hydrolyzing patterns are shown on SDS/10% PAGE. The partial human fibrin clot was prepared by thrombin inducing clot and incubated with extracts at different sample: M, protein molecular weight markers; F, fibrinogen; P, plasmin(3 U/mL); lane 1, larva part of *Meloimorpha japonica* (sample no. 3, 10 mg/mL); lane 2, adult part of *Meloimorpha japonica* (sample no. 4, 10 mg/mL); lane 3, adult part of *Allomyrina dichotoma* (sample no. 10, 10 mg/mL); lane 4, larva part of *Cetonia pilifera* (sample no. 11, 10 mg/mL); lane 5, larva part of *Apis mellifera* (sample no. 15, 10 mg/mL) at 37°C for 24 h.

도 처리 군과 동일한 우수효능을 나타내었으나 꿀벌 유충(시료 15) 물 추출물의 경우 혈전 용해 활성이 유의적으로 낮았다. 1 mg/mL의 농도에서는 방울벌레 성충(시료 4)의 물 추출물에서 가장 높은 혈전 용해 활성을 나타내었고, 다른 시료 추출물에서는 유의적으로 낮았다. 따라서 본 실험 결과는 곤충 시료의 물 추출물이 높은 효능 및 경제성을 지니는 천연 추출물 유래 혈전 용해제로서의 개발 가능성을 시사하고 있다.

## 2. Fibrin 분해산물의 분리

혈전용해 활성 측정법으로 fibrin plate법을 사용한 경우 plasmin activator와 plasmin과 유사한 활성을 나타내는 direct-acting fibrinolytic enzyme의 활성도 측정이 된다고 알려져 있다(Ahn et al. 2002b). Fibrinogen에는 plasmin의 전구체인 plasminogen이 일부 포함되어 있으므로 direct-acting fibrinolytic enzyme의 활성 측정을 위하여 plasminogen이 제거된 fibrinogen을 사용하였고, 단백질 분해 효소에 의한 비특이적 분해 작용에 의해서도 혈전용해 활성이 확인되므로 혈전용해 반응 후 fibrinogen 분해 산물의 구조적 특성을 분석하기 위해 SDS-PAGE를 진행하였다. 곤충 시료의 fibrin plate 분해 산물을 fibrinogen과 함께 전기영동을 통하여 분리하였다. 그 결과, Fig. 2와 같이 대조군인 plasmin 및 곤충 추출물은 fibrinogen의  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  chain을 분해하였다. 특히, 가장 큰 분자량의  $\alpha$ -chain의 경우 모든 처리군에서 전부 분해한 것으로 나타났다. 장수풍뎅이 성충(시료 10), 꽃무지 유충(시료 11), 꿀벌 유충(15번) 물 추출물의 단백질 분해물은 plasmin의 분해 패

턴과 비슷한 경향을 나타내었다. 그 외 방울벌레 유충, 성충(시료 3, 4)물 추출물의 가수분해 패턴은 plasmin과 비교 하였을 때, 높은 분자량의 단백질보다 저분자량의 단백질이 더 많은 것으로 나타났다.

Fibrinogen은 330 kDa의 분자량의 단백질로서 서로 다른 3쌍의 polypeptide chain( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ )이 이황화결합으로 연결되어 있고 각 polypeptide chain의 분자량은 63.5 kDa, 56 kDa 및 47 kDa이다. Fibrin은 thrombin의 작용에 의해 형성되는 단백질로서  $\alpha$ -,  $\beta$ -chain으로 구성되어 있으며, 낮은 분자량의 peptide로 이루어져 있다. Thrombin의 작용에 따라 fibrinogen보다 낮은 용해성을 가지고 있는 fibrin이 생성되고 불용성인 fibrin은 높은 분자량의 subunit으로 결합된다(McKee et al. 1970). Plasmin은 fibrin clot을 용해시키는 물질로서 serine protease의 성격을 가지고 있으며, fibrinogen의 subunit을 분해시킨다. Plasmin의 작용으로 분자량 45-42 kDa, 22-28 kDa 크기 사이의 분해산물이 생성된다고 알려져 있다(Siritapetawee et al. 2012). 본 실험 결과에서 45-42 kDa와 30 kDa 미만의 분해산물이 생성된 것으로 보아 방울벌레 유충 및 성충(시료 3, 4), 장수풍뎅이 성충(시료 10), 꽃무지 유충(시료 11), 꿀벌 유충(시료 15)의 물 추출물은 plasmin과 비슷하거나 더 강한 혈전용해 활성을 나타내는 것을 알 수 있었다.

생물자원으로서의 곤충의 가치는 다양성 차원에서 관심이 확대되고 있다. 화분매개용으로 뒤영벌, 꿀벌, 애꽃벌 등이 활용되고 있으며 애완용으로 나비류, 사슴벌레, 장수풍뎅이 등이 이용되고, 이 밖에도 해충방제용, 먹이, 환경정화 등의 용도로 이용되고 있다. 최근 곤충자원의 식·약용 소재화 및 상품화에 따른 고부가가치 산업으로의 발전가능성에 관심이 많아지면서 곤충 산업이 21세기 녹색 신 성장산업으로 급부상하고 있다. 세계 곤충 산업 시장규모는 2020년 최대 38조원 수준으로 성장할 것으로 전망되고 있으며, 국내 시장규모도 2009년 약 1,570억 원에서 2015년 약 3,000억 원으로 성장할 것으로 전망되어 유용 곤충 자원의 활용 범위가 다양한 측면에서 확대될 것으로 전망되고 있다. 이에 본 연구에서 국내 유용곤충 5종 추출물은 높은 혈전 용해 활성을 나타내어 이들의 식·곤충 자원으로서의 개발 가능성을 확인하였다.

## 적 요

국내 유용 곤충의 70% 에탄올 및 물 추출물의 혈전용해 효과를 확인하기 위하여 fibrin plate를 이용하여 혈전 용해능을 측정하였고, 그 분해산물을 SDS-PAGE를 이용하여 분리하였다. 그 결과 5종 (방울벌레 유충, 방울벌레 성충, 장수풍뎅이 성충, 꽃무지 유충, 꿀벌 유충)의 물 추

출물에서 plasmin과 비교하여, 높은 혈전 용해 능을 나타내었고, 분해 패턴 또한 plasmin과 비슷하거나 더 강한 단백질 분해능을 나타내어 물 추출물에서 높은 혈전 용해능을 확인할 수 있었다.

## 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 어젠다사업(과제번호: PJ0096082013)의 지원에 의해 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Ahn MY, Hahn BS, Ryu KS, Cho SI (2002a) Protective effects of water/methanol extracts of cricket on the acute hepatic damages in the ICR-mice induced by administration of CCl<sub>4</sub>. *Kor J Food Sci Technol* **34**, 684~687.
- Ahn MY, Hahn BS, Ryu KS, Cho SI (2002b) Effect of insect crude drugs on blood coagulation and fibrinolysis system. *Nat Prod Sci* **8**, 66~70.
- Astrup T, Mullertz S. (1952) The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch Biochem Biophys* **40**, 346~351.
- Baruah DB, Dash RN, Chaudhari MR, Kadam SS (2005) Plasminogen activators: a comparison. *Vascul Pharmacol* **44**(1), 1~9.
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* **72**, 248~254.
- Butenas S, Mann KG (2002) Blood coagulation. *Biochemistry (Moscow)* **67**, 3~12.
- Choi YH, Lee JS, Bae SY, Yang KJ, Yeom KW, Jo DH, Kang OH, Baik HS (2013) Isolation of bacteria with protease activity from Cheonggukjang and purification of fibrinolytic enzyme. *J Life Sci* **23**(2), 259~266.
- Hahn BS, Wu S, Kim SW, Kim YS (1999) Evaluation of anticoagulant and fibrinolytic activities from curd extracts of insects. *Kor J Pharmacogn* **30**(4), 409~412.
- Han SM, Lee SH, Yun CY, Kang SW, Lee KG, Kim IS, Yun EY, Lee PJ, Kim SY, Hwang JS (2006) Inhibition of nitric oxide production by ladybug extracts (*Harmonia axyridis*) in LPS-activated BV-2 cells. *Kor J Appl Entomol* **45**, 31~36.
- Heo JC, Park JY, Hwang JS, Park HC, Kang SW, Hwang SJ, Yun CY, Kwon TK, Lee SH (2006) Comparison of in vitro antioxidant activity and cyclooxygenase-2 promoter inhibitory activity in *Harmonia axyridis* Pallas and *Coccinella septempunctata* Kinne. *Kor J Food Preserv* **13**, 513~518.
- Laemmli UK. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**, 680~685.
- McKee PA, Mattock P, Hill RL (1970) Subunit structure of human fibrinogen, soluble fibrin, and cross-linked insoluble fibrin. *Proc Natl Acad Sci USA* **66**(3), 738~44.
- Morota A, Isawa H, Orito Y, Iwanaqa S, Chinzei Y, Yuda M (2006) Identification and characterization of a collagen-induced platelet

- aggregation inhibitor, triplatin from salivary glands of the assassin bug, *Triatoma infestans*. *FEBS J* **273**, 2955~2962.
- Noeske-Junqblut C, Kratzschmar J, Haendler B, Alagon A, Possani L, Verhallen P, Donner P, Schleuning WD (1994) An inhibitor of collagen-induced platelet aggregation from the saliva of *Triatoma pallidipennis*. *J Biol Chem* **269**, 5050~5053.
- Park JY, Heo JC, An SM, Yun EY, Han SM, Hwang JS, Kang SW, Yun CY, Lee SH (2005) High throughput-compatible screening of anti-oxidative substances by insect extract library. *Kor J Food Preserv* **12**, 482~488.
- Ryu HY, Heo JC, Hwang JS, King SW, Yun CY, Lee SH, Sohn HY (2008) Screening of thrombin inhibitor and its DPPH radical scavenging activity from wild insects. *J Life Sci* **18**(3), 363~368.
- Siritapetawee J, Thumanu K, Sojikul P, Thammasirirak S (2012) A novel serine protease with human fibrino(geno)lytic activities from *Artocarpus heterophyllus* latex. *Biochim Biophys Acta* **1824**(7), 907~12.
- Yun-Choi HS, Chung KS, Kim MH, Oh JH (1995) Antithrombotic effects of some traditional plant medicines. *Kor J Pharmacogn* **26**, 154~158.
- Yun YP, Kang WS, Lee MY (1996) The antithrombotic effects of green tea catechins. *J Fd Hyg Safety* **11**, 77~82.