ISSN (Print) 1225-9918
ISSN (Online) 2287-3406
Journal of Life Science **2020** Vol. 30. No. 1. 82~87 DOI : https://doi.org/10.5352/JLS.2020.30.1.82

- Note -

Expression of Digestive Enzyme Genes in the Digestive Tract of the Two-spotted Cricket During Starvation

Nuri Lee[1], Eun-Ryeong Lee[2], Kisang Kwon[1] and O-Yu Kwon[1]*

[1]*Department of Anatomy & Cell Biology, College of Medicine, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea*
[2]*Department of Biomedical Laboratory Science, College of Health & Welfare, Kyungwoon University, Kyungpook 39160, Korea*

Received November 8, 2019 / Revised December 23, 2019 / Accepted December 27, 2019

The gene expression of amylase, trypsin, and lipase in the digestive organs of the two-spotted cricket (*Gryllus bimaculatus*) was tested to understand how it overcomes starvation. Amylase gene expression in the foregut was reduced by digesting no food until starvation-3 days. Although that expression persisted to starvation-6 days, it returned to normal at refeeding-2 days. The expression of trypsin peaked at around 8 times as starvation started and at around 4 times at starvation-3 days. After refeeding, trypsin expression rose up to 14 times and then fell back to normal as feeding continued. Lipase gene expression remained elevated at 1.5-2 times when starvation started and returned to normal at refeeding-2 days. In the midgut, amylase expression decreased until starvation-3 days, increasing to about 2 times at starvation-6 days; it did not rise again by refeeding. Trypsin was constantly expressed regardless of starvation and refeeding, while lipase expression was reduced by 0.6-0.7 times by starvation and refeeding. Amylase gene expression in the hindgut was 0.2-0.3 times lower than starvation-6 days, and it increased by 0.5 times on refeeding-1 day and more than 1.5 times on refeeding-3 days. The gene expression of trypsin was almost identical to amylase.

Key words : Digestive organs, *Gryllus bimaculatus*, refeeding, starvation

서 론

곤충은 지구상에서 가장 다양하고 풍부한 동물로서 자연생태계 전체 및 인간의 사회-경제에도 큰 영향을 미친다. 곤충은 수백만 년이 넘는 기간 동안 거의 모든 식품 공급원에 대해 형태학적 및 생화학적 적응을 발전 시켰기 때문입니다. 입 부분이 다양하게 적응하여 식물과 동물 기원의 모든 종류의 체액 또는 고형 음식을 섭취 할 수 있다. 특히, 곤충은 척추동물의 소화관의 분자 구조 및 위치가 상당히 유사하며. 소화 효소 합성, 분비 및 소화 메커니즘은 기본적으로 모든 동물과 유사하다. 곤충 소화기계는 배 발생기원(embryological origin)에 따라서 전장(foregut), 중장(midgut), 후장(hindgut)으로 구별된다. 전장과 후장은 외배엽(ectoderm)유래로서 각질(cuticle)층을 가지고 있어 탈피(moulting)과정을 거친다. 그러나, 중장은 내배엽(endoderm)유래로 각질층이 없으며 반투과성-비세포성인 곤충 중장의 특유의 peritrophic matrix를 가지고 있다[3, 23]. 곤충의 전장은 일반적으로 음식 저장 및 파쇄에 관여하며 중장은 소화효소 생합성, 음식물의 소화 및 흡수, 후장은 배설 및 전해질 균형에 관여한다[3, 21]. 귀뚜라미의 소화기계는 전장은 식도(esophagus), 크게 확장될 수 있는 먹이주머니(crop) 및 근육으로 이루어지고 내부에 grinding teeth를 가지고 있는 위장(proventriculus), 중장은 주요 소화효소를 분비하는 두 개의 큰 caeca를 가진(gastric cecum) 및 type I peritrophic membrane을 생합성하는(ventriculus) 그리고 후장은 음식물의 발효를 위하여 bacteria/protozoa가 들어가 있는 exoperitrophic pouch를 가진 회장(ileum) 및 직장(rectum)으로 구성되어 있다. 전장과 중장 사이에 Malpighian tubules가 연결되어있다. 곤충에서 영양소의 효율적인 소화 및 흡수는 소화효소 유전자의 발현 시간 및 소화효소 분비 부위뿐만 아니라 다양한 장 영역 사이의 영양소 및 효소의 흐름에 크게 좌우된다[22, 26].

많은 곤충 종은 여러 인수질병의 벡터이거나 해충으로 분류되어 인수질병, 농업, 식품 저장 또는 건축 산업에 막대한 피해를 유발한다[24]. 따라서 그들의 생활 방식과 생리학에 대한 지식의 축적은 그 어느 때보다 요구된다. 그런 이유로, 곤충의 소화기계 생리학은 지난 수십 년 동안 집중적으로 연구되어 왔으며 다양한 해충방제 기술이 개발되었다. 최근에는 식물억제제, 곤충 성장 조절제, 형질 전환 식물 및 기타 생태 친화적인 살충제를 사용하는 다양한 전략이 곤충의 발달과 번식을 제어하는 기술이 연구되고 있다[5]. 그러나 집중적인 연구에도 불구하고 곤충의 환경 변화에 대한 빠른 적응과 적응 메커니

***Corresponding author**
Tel : +82-42-580-8206, Fax : +82-42-586-4800
E-mail : oykwon@cnu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

즘의 생리학 및 진화학에 대해서는 여전히 많은 질문이 남아 있다. 친환경적인 해충방제의 새로운 방법을 개발하기 위해서는 이러한 메커니즘의 연구와 곤충 소화기계 생리학(효소 방출 조절 포함)에 대한 심도 있는 연구가 필요불가결하다. 기아는 곤충에서 가장 흔하고 극단적 인 스트레스 요인 중 하나이므로 에너지 요구를 유지하기가 어렵다. 외부 음식 공급은 곤충 생존을 위한 중요한 영양소 공급원이다. 곤충이 장기간 충분한 음식을 섭취하지 않으면 성장과 번식이 크게 줄어든다. 그러나 곤충은 스트레스 방지 상태로 대응하여 새로운 식품 자원의 발견 및 이동, 신진 대사를 제한하는 활동 감소, 신체의 항상성을 유지하기 위한 지질 침착 증가와 같은 불리한 외부 음식 부족을 극복 할 수 있다[11, 36]. 기아에 직면하면서 곤충 반응에는 혈당, 트레할로스(trehalose) 및 트리글리세리드(triglyceride)수치와 같은 여러 가지 생리학적 변화도 포함된다[13]. 동시에 기아는 곤충의 호르몬 조절과 신경 신호의 변화를 적극적으로 시작한다[28, 35]. 본 논문에 사용된 귀뚜라미(*Gryllus bimaculatus*)는 잡식성이며 셀룰로오스 함량이 높은 풀뿌리, 단백질이 많이 포함된 버섯류 및 곤충(죽거나 살아있는)을 먹이로 한다[24]. 귀뚜라미가 식량이 부족한 기아상태를 어떻게 극복하는지를 알기 위하여 소화기관(전장, 중장, 후장)에서 amylase, trypsin, lipase의 유전자발현 양상을 연구하였다.

재료 및 방법

본 연구에 사용 된 쌍별 귀뚜라미(*G. bimaculatus*)의 5령 유충은 한국 농촌진흥청(전주, 한국)에서 분양 받았다. 성충은 투명한 플라스틱 통(직경, 9 cm; 높이, 10 cm)에서 10시간/14시간의 명/암 광주기에서 70%의 습도로 28-30℃에서 사육하였다. 귀뚜라미에 물은 무제한으로 공급되었으며 사료는 30% casein (protein), 30% dextrose (carbohydrate), 40% cellulose and one drop of oil (lipid)를 공급하였다. 실험에는 동일하게 자란 수컷만 사용되었다. 서로 잡아먹는 것을 피하기 위하여 플라스틱 통 1개에 한 마리의 수컷 귀뚜라미를 사육하였다. 6일 동안 기아상태에서도 귀뚜라미에게 물은 계속 공급되었다. 귀뚜라미 해부를 위해서 CO_2 가스에 노출시켜 마취시켰다. 각 조직은 해부 현미경(Nikon Eclipse E600)으로 관찰하며 절단하였다[10].

*G. bimaculatus*의 각각의 조직을 100 µl TRIzol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)에 넣었다. Plastic pestle을 사용하여 조직을 아주 잘게 균질화 하였다. Total RNA를 얻은 후 NanoDrop Lite 자외선-분광 광도계(Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)로 정량하였다. Total mRNA는 SuperscriptIITM First Strand Kit (Invitrogen Carlsbad, CA, USA)를 사용하여 역전사 하였다. RT-PCR은 총 30 cycles 시행되었다. 각 단계의 조건은 94℃에서 30초, 58℃에서 30초, 72℃에서 60초이다. 사용된 primer는 다음과 같다; cActin-F (5′-ATCACTGCCCTTGCTCCTTC-3′), & cActin-R (5′-TTCCTGTGGACAATGGATGG-3′), cTryp220-F (5′-GCCTGCAAGAAGTACTACCC-3′) & cTryp220-R (5′-TCTGGGCGATCCAGTCA-3′), cAmyl314-F (5′-ATGTTGTCGTGGCCCTATG-3′) & cAmyl314-R (5′-GTCTGCTTCAGGTCAGTGTT-3′), cLipase3-F (5′-CGTCGCCACATCAAGTACAA-3′) & cLipase3-R (5′-CGAACATGGCCCGAATCTT-3′). 여러 그룹 간의 통계적 유의성: 일원 분산 분석(ANOVA) 테스트. GraphPad Prism 6 소프트웨어(GraphPad Software Inc.). *p<0.05 **p<0.005 ***p<0.001 ****p<0.0001.

결과 및 고찰

각각의 소화효소(amylase, trypsin, lipase) 유전자가 전장, 중장, 후장에서 상대적 발현을 상호 비교하였다(Fig. 1). 많은 곤충은 polysaccharide가 풍부한 음식을 먹고 음식에서 starch을 분해하기 위해 소화 amylase가 필요하다. 이 amylase는 starch 소화와 곤충 생존에 중요한 역할을 한다[27]. 따라서 곤충의 내장에서 amylase 효소 유전자발현과 생화학적 특성을 이해하는 것이 필수적이다[30]. 많은 연구자들은 곤충의 amylase관련 연구로서 식물의 amylase inhibitor와 곤충 amylase에 저항성 작물육종에 집중하고 있다. 곤충에서 보고된 amylase gene들은 *Drosophila melanogaster* & *D. ananassae* [4],

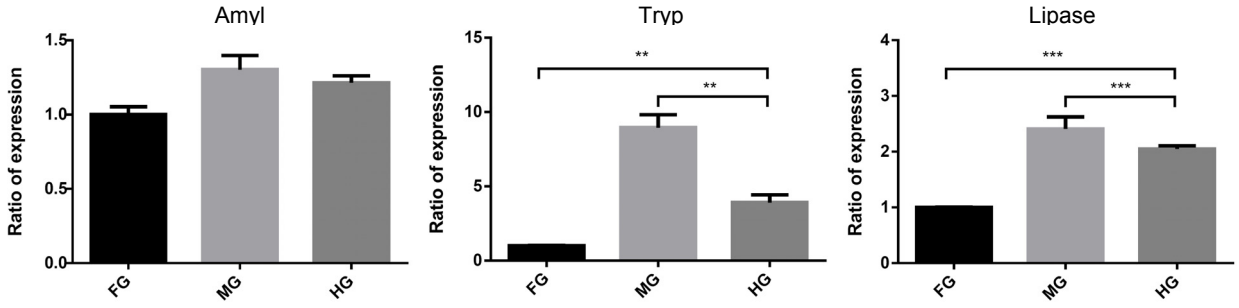

Fig. 1. Gene expression of amylase (black), trypsin (light gray) and lipase (dark gray) from digestive tract of male *G. bimaculatus*. Mean ± SEM. n=6. *p<0.05 **p<0.005 ***p<0.001 ****p<0.0001. Statistical significance between multiple groups: one-way analysis of variance (ANOVA) test. GraphPad Prism 6 software (GraphPad Software Inc.).

Aedes aegypti [6], *Bombyx mori* [14], *Hypothenemus hampei* [2]. *B. mori* amylase유전자 발현은 전장에서 아주 강하게 발현하였다. *Spodoptera littoralis* (Boisduval)에서 amylase활성도가 전장＜후장＜중장 순으로 높았다[12], 그러나 American cockroach, *Periplaneta americana*의 amylase활성도는 후장＜중장＜전장 순이 높았다[16]. 본 연구는 *G. bimaculatus* 소화기계에서 amylase유전자 발현을 측정하였다. amylase유전자 발현은 전장에 비하여 중장은 약 1.4배, 후장은 약 1.3배 높은 발현을 보였다.

Trypsin은 chymotrypsin family의 serine endopeptidase로서 음식소화, 면역방어 및 zymogen 활성화를 포함하여 곤충에서 다양한 중요한 역할을 한다. Trypsin 유전자발현은 *Aedes aegypti*의 instar의 모든 발생과정에 지속된다[34], 그러나 Trypsin 유전자발현의 정확한 메커니즘은 완전하게 알지 못하고 있다[15]. 지금까지 보고된 대표적인 곤충 trypsin 유전자는 *Diaprepes abbreviatus* [33], *Manduca sexta* [17], *Choristoneura fumiferana* [29], *Aedes aegypti* [1, 8]이 있다. 곤충의 trypsin 연구 역시 amylase와 동일하게 식물의 trypsin inhibitor와 곤충 trypsin에 저항성 작물육종등 해충방제에 중점을 두고 개발되고 있다. *G. bimaculatus* 소화기계에서 trypsin유전자 발현을 측정하였다. trypsin유전자 발현은 전장에 비하여 중장은 약 10배, 후장은 약 4배 높은 발현을 보였다.

지방은 fatty acids, phospholipids, fats, waxes, vitamins (e.g. A, E, D, K), monoglycerides, diglycerides, triglycerides, sterols 포함한 포괄적인 용어이다. 이들은 세포벽 형성, 면역 및 중개 대사와 같이 곤충에서 많은 기능을 가지고 있다[9]. 곤충에는 triacylglycerol lipases, alkaline phosphatase, phospholipases와 같은 많은 종류의 지방분해 효소가 알려지고 있고 관련 유전자들이 확인되었다[7, 25]. *Mayetiola destructor* (Say)에서 lipase 유전자가 분리되었는데 midgut에서 발현이 확인되었다[20], 그리고 *Phlebotomus papatasi*에서 분리된 lipase는 mammalian lipase와 분자 성격이 유사하였다[7, 18]. 곤충의 지방 유전자발현에 관한 연구는 amylase와 trypsin에 비하여 미미한다, 그 이유는 상대적으로 많은 종류의 지방분해 관련 효소가 존재하고 해충방제의 측면에서도 유용성이 떨어지기 때문이다. 즉 곤충의 먹이에는 지방의 함량이 단수화물, 단백질에 비하여 미미하여 fat body, salivary gland중심으로 연구가 이루지고 있다. *G. bimaculatus* 소화기계에서 lipase유전자 발현을 측정하였다. lipase유전자 발현은 전장에 비하여 중장은 약 2.5배, 후장은 약 2배 높은 발현을 보였다.

여러 종류의 곤충 소화기관에서 amylase, trypsin, lipase의 분비 및 활성측정에 관한 보고는 많지만[12, 31, 32], 그들의 유전자발현을 연구한 결과는 찾아보기 어렵다. *Corcyra cephalonica* Stainton에서 중장에서는 amylase, trypsin, lipase 활성이 확인되지만 전장에서는 amylase활성만 존재하였다[19]. *Periplaneta americana*에서[16] amylase 활성도는 후장에 비하여 중장은 5배이지만 전장에서 무려 600배 정도 강하였으며, trypsin 활성도는 전장과 중장에서는 미량 확인되지만 후장에서는 거의 확인할 수 없을 정도이다. Lipase활성도는 중장이 가장 강하고 후장에서 약하게 확인되며 전장에서는 거의 확인되지 않을 정도이다. *G. bimaculatus* 소화기관(전장, 중장, 후장)에서 각각의 amylase, trypsin, lipase 유전자발현을 조사하였다(Fig. 2). 전장에서는 amylase 유전자발현을 control로 하였을 때에, trypsin유전자발현은 아주 미미한 수준이지만 lipase 유전자발현은 현저하게 amylase 유전자발현보다 강하지는 않지만 가장 강한 발현을 보였다. 중장에서는 trypsin유전자발현이 약 2배 정도 강하며 lipase 유전자발현은 약 2.5배 정도 강한 발현을 보였다. 후장에서는 amylase 유전자발현과 trypsin유전자발현이 거의 동일한 수준인 것에 비하여 lipase 유전자발현은 약 2.2배 강한 유전자발현을 보였다.

Starvation에 의한 amylase, trypsin, lipase의 유전자발현을 조사하였다(Fig. 3). 전장에서 amylase 유전자발현은 starvation 3일째에 1/2수준으로 내려가지만, 6일 starvation에서 3배 정도 높은 발현을 보였다. 그러나 refeeding에 의해서 다시 아주 약하게 발현하였다. Trypsin 유전자발현은 starvation이 시작되면 약 8배 정도 상승하고 starvation 3일째에도 약 4배

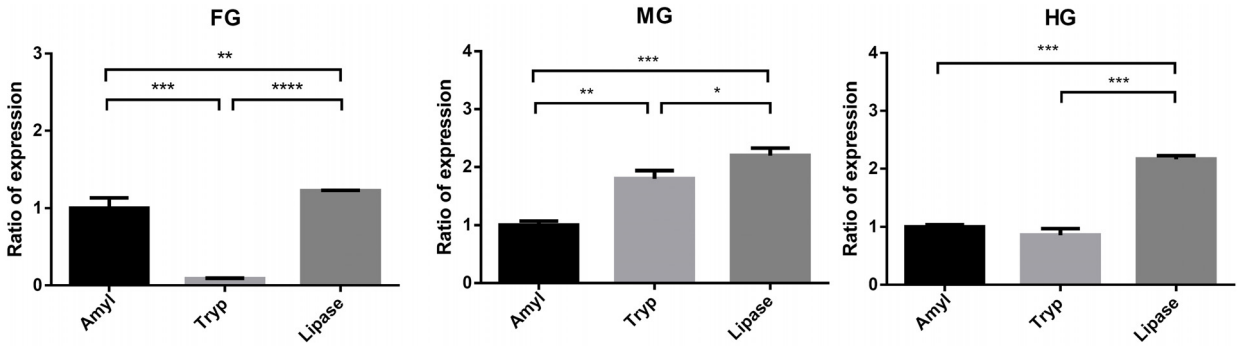

Fig. 2. Gene expression of amylase (black), trypsin (light gray) and lipase (dark gray) from digestive tract of male *G. bimaculatus*. Mean ± SEM. n=6. *p<0.05 **p<0.005 ***p<0.001 ****p<0.0001. Statistical significance between multiple groups: one-way analysis of variance (ANOVA) test. GraphPad Prism 6 software (GraphPad Software Inc.).

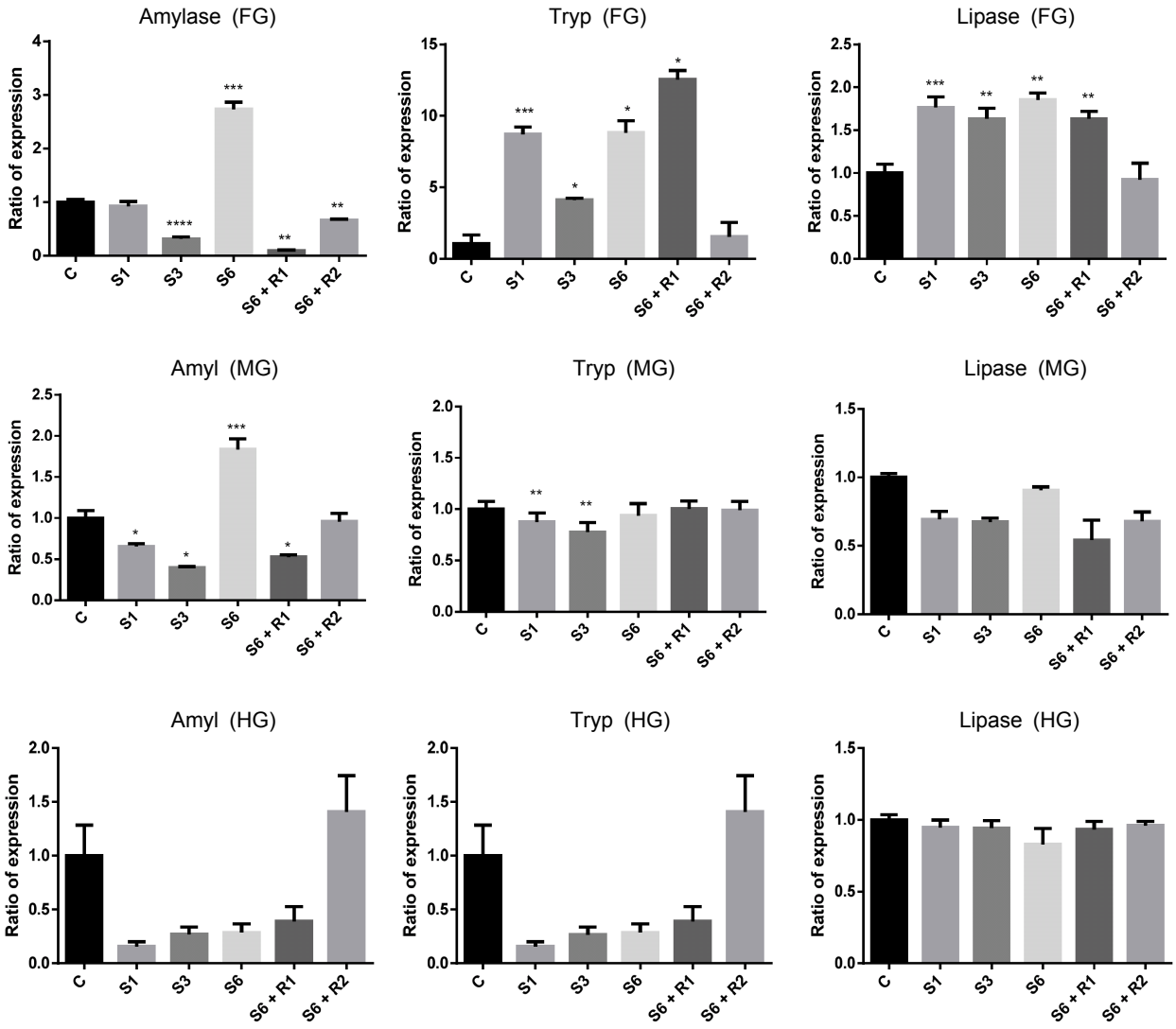

Fig. 3. Gene expression of amylase, trypsin and lipase by starvation (S) and refeeding (R) in the digestive tract of male *G. bimaculatus*. Mean ± SEM. n=6. *p<0.05 **p<0.005 ***p<0.001 ****p<0.0001. Statistical significance between multiple groups: one-way analysis of variance (ANOVA) test. GraphPad Prism 6 software (GraphPad Software Inc.).

정도 높은 수준을 유지한다. Refeeding에 의해서 다시 14배 정도 까지 상승하였다가 계속 먹이가 공급되면 정상수준으로 떨어진다. Lipase 유전자발현은 starvation이 시작되면 1.5-2배 정도로 상승한 상태를 유지하다가 refeeding 2일째가 되면 정상상태가 된다. 전장에서 starvation에 의한 amylase 유전자발현은 일정시간, 즉 3일 starvation까지는 공급되는 먹이가 없어서 발현이 감소한다. 그러나 6일 동안 starvation이 지속되면 발현이 급하게 상승하지만 refeeding에 의해서 급격하게 떨어져 2일 정도 먹이공급이 이루어지면 정상으로 돌아오는 유전자발현양상을 보인다. Trypsin 유전자발현은 starvation에 의해서 급상승하며 2일 정도 먹이공급이 이루어지면 정상으로 돌아오는 유전자발현양상을 보인다. Lipase 유전자발현은 starvation이 시작되면 일정 수준 상승한 상태를 유지하며 refeeding 2일째가 되면 정상상태가 된다. 결국 전장은 먹이 공급의 중단에 따라서 유전자발현의 상승하지만 먹이 공급이 2일 정도 유지되면 정상적인 유전자발현상태가 된다. 중장에서 amylase 유전자발현은 starvation 3일째까지 계속적으로 내려가다가 starvation 3일째에 약 2배 정도 상승한다. 그러나 refeeding에 의해서 다시 상승발현은 하지 않았다. Trypsin 유전자발현은 starvation과 refeeding에 관계없이 항상 일정하게 유지되었다. Lipase 유전자발현은 starvation에 의해서 0.7배 정도로 감소하지만 6일째에 정상상태를 보인다가 refeeding에 의해서 다시 0.7배 정도로 감소한다. 중장에서 starvation에 의한 amylase 유전자발현은 전장에서와 유사한 유전자발현양상으로 먹이 공급이 없으면 낮아지다가 6일 동안 starvation이 지속되면 발현이 급하게 상승하지만 refeeding에 의해서 급격하게 떨어져 2일 정도 먹이공급이 이루어지면 정상으로 돌아오는 유전자발현양상을 보인다. 그리고 중장에서의 trypsin,

lipase의 유전자발현은 전정과 후장에서와 같이 먹이 공급에 따라서 급변하지 않고 거의 일정수준을 계속 유지하는 양상을 보인다. 즉, 중장은 먹이 공급에 크게 의존하지 않고 항상 유전자발현이 유지되는 것을 알 수 있다. 후장에서 amylase 유전자 발현은 starvation 6일째까지 0.2-0.3배의 낮은 수준을 유지하다가 refeeding 1일째에 0.5배 상승하고 refeeding 2일째에 1.5배 이상 상승한다. Trypsin 유전자발현은 amylase 유전자발현과 거의 동일한 형태를 취한다. Lipase 유전자발현은 starvation과 refeeding에 관계없이 항상 일정하게 유지되었다. 후장에서 amylase와 trypsin 유전자발현은 starvation 먹이 공급 없으면 즉시 발현이 내려가지만 refeeding 2일째가 되면 정상상태가 된다. 그러나 lipase 유전자발현은 먹이공급과 상관없이 항상 변함이 없다. 즉, 후장에서 amylase와 trypsin 유전자발현은 먹이 의존적으로 발현 변화하지만 lipase 유전자발현은 먹이공급과 상관없이 항상 동일한 수준을 유지한다.

결과를 요약하면, 곤충 소화기관의 amylase, trypsin, lipase 유전자발현과 분비는 다른 양상으로 행동한다. 즉, *G. bimaculatus*의 전장은 amylase, trypsin, lipase 유전자, 중장은 amylase 유전자, 후장은 amylase, trypsin 유전자발현이 먹이 의존적으로 발현하지만, 중장의 trypsin, lipase 유전자와 후장의 lipase 유전자는 먹이 의존적인 발현이 아니고 항상 일정한 유전자발현 상태를 유지한다. 이 결과는 곤충이 어떻게 starvation과 같은 극한의 먹이제한을 극복하는지를 유전자발현 수준의 연구에서 중요한 실마리를 제공할 것이다.

감사의 글

이 성과는 2019년도 과학기술정보통신부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. NRF-2019R1F1A1049836).

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Barillas-Mury, C., Graf, R., Hagedorn, H. H. and Wells, M. A. 1991. cDNA and deduced amino acid sequence of a blood meal-induced trypsin from the mosquito, *Aedes aegypti*. *Insect Biochem.* **21**, 825-831.
2. Bezerra, C. A., Macedo, L. L., Amorim, T. M., Santos, V. O., Fragoso, R. R., Lucena, W. A., Meneguim, A. M., Valencia-Jimenez, A., Engler, G., Silva, M. C., Albuquerque, E. V. and Grossi-de-Sa, M. F. 2014. Molecular cloning and characterization of an α-amylase cDNA highly expressed in major feeding stages of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Gene* **553**, 7-16.
3. Chapman, R. F. 1998. Alimentary canal, digestion and absorption. In: Chapman RF, editor. The insects, structure and function. 4th edition. U.K.: Cambridge University Press. pp38-58.
4. Da Lage, J. L., Maisonhaute, C., Maczkowiak, F. and Cariou, M. L. 2003. A nested alpha-amylase gene in *Drosophila ananassae*. *J. Mol. Evol.* **57**, 355-362.
5. Ejiofor, A. O. 2016. Insect Biotechnology. In: Raman, C., Goldsmith, M., Agunbiade, T. (eds) Short views on insect genomics and proteomics. entomology in focus, vol 4. Springer.
6. Grossman, G. L., Campos, Y., Severson, D. W. and James, A. A. 1997. Evidence for two distinct members of the amylase gene family in the yellow fever mosquito, A*edes aegypti*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **27**, 769-781.
7. Horne, I., Haritos, V. S. and Oakeshott, J. G. 2009. Comparative and functional genomics of lipases in holometabolous insects. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **39**, 547-567.
8. Kalhok, S. E., Tabak, L. M., Prosser, D. E., Brook, W., Downe, A. E. R. and White, B. N. 1993. Isolation, sequencing and characterization of two cDNA clones coding for trypsin-like enzymes from the midgut of *Aedes aegypti*. *Insect Mol. Biol.* **2**, 71-79.
9. Klowden, M. J. 2007. Physiological systems in insects. 2nd ed. New York, NY: Elsevier. p. 688.
10. Kwon, K., Yoo, B. K., Ko, Y., Choi, J. Y., Kwon, O. Y. and Kim, S. W. 2018. Effect of starvation on expression of troponin complex genes and ER stress associated genes in skeletal muscles. *Biomed. Res.* **29**, 2368-2372.
11. Lorenz, M. W. and Gäde, G. 2009. Hormonal regulation of energy metabolism in insects as a driving force for performance. *Integr. Comp. Biol.* **49**, 380-392.
12. Lwalaba, D., Hoffmann, K. H. and Woodring, J. 2010. Control of the release of digestive enzymes in the larvae of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **73**, 14-29.
13. McCue, M. D., Terblanche, J. S. and Benoit, J. B. 2017. Learning to starve: Impacts of food limitation beyond the stress period. *J. Exp. Biol.* **220**, 4330-4338.
14. Ngernyuang, N., Kobayashi, I., Promboon, A., Ratanapo, S., Tamura, T. and Ngernsiri, L. 2011. Cloning and expression analysis of the *Bombyx mori* α-amylase gene (Amy) from the indigenous Thai silkworm strain, Nanglai. *J. Insect Sci.* **11**, 38.
15. Noriega, F. G. and Wells, M. A. 1999. A molecular view of trypsin synthesis in the midgut of *Aedes aegypti*. *J. Insect Physiol.* **45**, 613-620.
16. Oyebanji, O., Soyelu, O., Bamigbade, A. and Okonji, R. 2014. Distribution of digestive enzymes in the gut of American cockroach, *Periplaneta americana* (L.). *Int. J. Sci. Res. Pub.* **4**, 1-5.
17. Peterson, A. M., Barillas-Mury, C. V. and Wells, M. A. 1994. Sequence of three cDNAs encoding an alkaline midgut trypsin from *Manduca sexta*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **24**, 463-471.
18. Rosetto, M., Belardinelli, M., Fausto, A. M., Marchini, D.,

Bongiorno, G., Maroli, M. and Mazzini, M. 2003. A mammalian-like lipase gene is expressed in the female reproductive accessory glands of the sand fly *Phlebotomus papatasi* (Diptera, Psychodidae). *Insect Mol. Biol.* **12**, 501-508.
19. Sbivastava, P. N. 1961. Studies on the *physiology* of digestion in the last instar larva of the rice moth (*Corcyra cephalonica* Stainton). *Beitr. Entomol.* **11**, 11-15.
20. Shukle, R. H., Mittapalli, O., Morton, P. K. and Chen, M. S. 2009. Characterization and expression analysis of a gene encoding a secreted lipase-like protein expressed in the salivary glands of the larval Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say). *J. Insect Physiol.* **55**, 104-111.
21. Terra, W. R. 1988. *Physiology* and biochemistry of insect digestion: an evolutionary perspective. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **21**, 675-734.
22. Terra, W. R. 1990. Evolution of digestive systems of insects. *Annu. Rev. Entomol.* **35**, 181-200.
23. Terra, W. R. 2011. The origin and functions of the insect peritrophic membrane and peritrophic gel. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **47**, 47-61.
24. Terra, W. R. and Ferreira, C. 1994. Insect digestive enzymes: Properties, compartmentalization and function. *Comp. Biochem. Physiol. Part B. Biochem. Mol. Biol.* **109**, 1-62.
25. Terra, W. R. and Ferreira, C. 2005. Biochemistry of digestion. In: Gilbert, L. I., Iatrou, K., Gill, S. S. editors. Comprehensive molecular insect science, vol. 3. San Diego, California, USA: Elsevier. pp171-224.
26. Terra, W. R. and Ferreira, C. 2009. Digestive system. In: Resh V. H., Cardé R. T. editors. Encyclopedia of Insects, 2nd edition. San Diego: Academic Press, pp273-281.
27. Valencia-Jiminez, A., Bustillo, A. E., Ossa, G. A. and Chrispeels, M. J. 2000. α-Amylases of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) and their inhibition by two plant amylase inhibitors. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **30**, 207-213.
28. Verhagen, L. A., Luijendijk, M. C., Korte-Bouws, G. A., Korte, S. M. and Adan, R. A. 2009. Dopamine and serotonin release in the nucleus accumbens during starvation-induced hyperactivity. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **19**, 309-316.
29. Wang, S., Young, F. and Hicky, D. A. 1995. Genomic organization and expression of a trypsin gene from the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **25**, 899-908.
30. Wilhite, S. E., Elden, T. C., Brzin, J. and Smigocki, A. C. 2000. Inhibition of cysteine and aspartyl proteinases in the alfalfa weevil midgut with biochemical and plant-derived proteinase inhibitors. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **30**, 1181-1188.
31. Woodring, J. 2017. The flow and fate of digestive enzymes in the field cricket, *Gryllus bimaculatus*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **95**, 3.
32. Woodring, J. and Weidlich, S. 2016. The secretion of digestive enzymes and caecal size are determined by dietary protein in the cricket *Gryllus bimaculatus*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **93**, 121-128.
33. Yan, X. H., De Bondt, H. L., Powell, C. C., Bullock, R. C. and Borovsky, D. 1999. Sequencing and characterization of the citrus weevil, *Diaprepes abbreviatus*, trypsin cDNA. Effect of Aedes trypsin modulating oostatic factor on trypsin biosynthesis. *Eur. J. Biochem.* **262**, 627-636.
34. Yang, Y. J. and Davies, D. M. 1971. Trypsin and chymotrypsin during metamorphosis in *Aedes aegypti* and properties of the chymotrypsin. *J. Insect Physiol.* **17**, 117-131.
35. Yu, Y., Huang, R., Ye, J., Zhang, V., Wu, C., Cheng, G., Jia, J. and Wang, L. 2016. Regulation of starvation-induced hyperactivity by insulin and glucagon signaling in adult *Drosophila*. *Elife* **5**, E15693.
36. Zhang, D. W., Xiao, Z. J., Zeng, B. P., Li, K. and Tang, Y. L. 2019. Insect behavior and physiological adaptation mechanisms under starvation stress. *Front. Physiol.* **10**, 163.

초록 : 쌍별 귀뚜라미의 소화기관에서 기아에 의한 소화효소 유전자의 발현

이누리[1] · 이은령[2] · 권기상[1] · 권오유[1]*
([1]충남대학교 의과대학 해부학교실, [2]경운대학교 간호보건대학 임상병리학과)

쌍별 귀뚜라미(*G. bimaculatus*)가 식량공급이 제한적이거나 starvation상태를 어떻게 극복하는지를 알기 위하여 소화기관(전장, 중장, 후장)에서 소화작용의 가장 중요한 3대 효소인 amylase, trypsin, lipase의 유전자발현을 조사하였다. *G. bimaculatus*의 전장에서는 amylase, trypsin, lipase 유전자, 중장은 amylase 유전자, 후장은 amylase, trypsin 유전자의 발현이 먹이 의존적이지만, 중장의 trypsin, lipase 유전자와 후장의 lipase 유전자는 먹이 비의존적인 발현으로 항상 일정한 상태를 유지한다. 이 결과는 곤충이 starvation과 같은 외부환경에 적응 및 생존하는지를 관련 유전자들의 발현수준에서 접근할 수 있는 중요한 실마리를 제공할 것이다.