

Expression of Corazonin Gene by Developmental Stage of Scuttle Fly

Hohyun Park^{†,*}

Department of Biomedical Laboratory Science, Mokpo Science University,
Mokpo-si, Jeollanam-do 58644, Korea

The corazonin (Crz) gene showed two subtypes of different length at larval and pupal stage. The long subtype fade out in adult central nerve system (CNS) but the short one survive through all the life cycle from larva to adult. The short subtype has the same base sequences with mature Crz mRNA and detected in both brain and ventral nerve cord (VNC). The long one, on the contrary, was detected only in the brain tissue. As observed in above results, Crz neurons develop in different pattern in the CNS of scuttle fly and the Crz gene expresses two different subtypes. These results suggest that this neurotransmitter may perform differential neurophysiological functions in the scuttle fly. Variation in the amino acid composition of the final active undecapeptide supports in strong those possibilities. We expect further studies on the relationship between neurophysiological functions of Crz and behavioral characteristics of the scuttle fly.

Key Words: Scuttle fly, Corazonin, Central nerve system, RT-PCR

서 론

Scuttle fly라 불리는 *Megaselia scalaris*에 대해 알(egg), 애벌레(larvae), 번데기(pupae), 성충(adult fly) 시기의 발생 단계별로 형태적인 특징을 관찰하였고(Park, 2018), 애벌레 2령, 3령, 번데기 1일, 3일, 4~5일, 7~9일, 10~12일, 13~15일, 성충 시기별로 중추신경계(central nerve system, CNS)를 채취하여 발달단계에 따른 형태적인 특징에 대해서도 설명하였다(Park et al., 2018).

Scuttle fly의 중추신경계를 채취하여 2령과 3령 애벌레, 번데기, 성충 시기의 corazonin 생산 뉴런 발현에 대해서도 살펴보았는데(Park, 2020; Park, 2021), Scuttle fly의 2령과 3령 애벌레 시기에는 모두 중추신경계에서 corazonin 생산 뉴런이 세 개의 부분에 존재하였으며, 대뇌(brain)조직의 전대뇌(procerebrum) 부분의 양쪽 시엽(optic lobe, OL)

이 만들어지는 등측면(dorsolateral, DL) 가장자리, 양쪽 대뇌 중앙 맨 앞쪽 인접 부분인 등중양(dorsomedial, DM) 부위, 복신경색(ventral nerve cord, VNC) 양쪽 가장자리에서 발견되었다(Park, 2020).

그리고 번데기 시기에는 애벌레 시기에서의 변태로 인해 중추신경계 조직에서 두 개 부분의 corazonin 뉴런이 사라지고 한 개의 부분만 시엽 근처의 전대뇌 등측면 부분에 그대로 corazonin 뉴런이 발현되고 있었다. 또한 성충 시기에는 번데기 시기와 거의 비슷하지만 대뇌 중앙 쪽으로 이동한 등측면 쪽에 corazonin 뉴런이 성체에서 거의 정중앙에 좌우로 위치되어 있었다(Park, 2021).

또한 scuttle fly의 발생 단계에서 애벌레 시기의 중추신경계 조직으로 제자리부합법(ISH)을 시행하여 corazonin 뉴런을 발현시켰고, corazonin 뉴런을 발현시킨 조직을 이용하여 일반염색(hematoxylin-eosin stain) 및 신경염색(luxol fast blue-cresyl violet stain)을 실시하여 corazonin 뉴런의 형

Received: November 10, 2023 / Revised: December 9, 2023 / Accepted: December 11, 2023

*Professor.

[†]Corresponding author: Hohyun Park. Department of Biomedical Laboratory Science, Mokpo Science University, 413-1 Yeongsan-Ro, Mokpo-si, Jeollanam-do 58644, Korea.

Tel: +82-61-270-2745, Fax: +82-61-270-2745, e-mail: phh7082@hanmail.net

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

©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.

태와 주위의 신경조직 내의 신경세포와 니슬소체(Nissle body), 말이집(myelin sheath) 등의 형태학적 특징을 확인하였다(Park, 2022).

애벌레가 번데기 시기를 거쳐 성충으로 발생하는 동안 corazonin 뉴런은 세포자연사(apoptosis)에 의해 그 숫자와 분화가 크게 변하게 된다. *Drosophila*에서 면역 반응된 약간의 corazonin 뉴런은 세포자연사 결과로 변태하는 동안 사라진다고 하였다(Lee et al., 2008). *D. melanogaster*의 애벌레 시기에서 복신경색에 집합된 corazonin 뉴런은 초기 번데기 시기의 중추신경계가 발생하는 동안에 제거가 되고, 후기 번데기 시기가 발생하는 동안 전대뇌의 등중양에서 corazonin 뉴런의 한 쌍이 제거가 된다고 하였다(Choi et al., 2005; Choi et al., 2006; Choi, 2009; Lee et al., 2008; Lee et al., 2011). 또한 복신경색의 corazonin 뉴런은 전구세포로부터 원래 분화되었고, 만약 발생하고 있는 배아에서 세포자연사를 거치면서도 전구세포가 생존한다면 corazonin을 생산하는 뉴런으로 분화될 수 있다고 하였다(Novotny et al., 2002; Lundell et al., 2003; Karcavich and Doe, 2005). 대부분의 곤충에서 신경세포의 세포자연사는 주로 두 개의 뚜렷한 발생 시기에 발생하는데 첫 번째가 변태하는 동안에, 두 번째가 성충의 발생 직후 일어난다고 보고되고 있다(Kimura and Truman, 1990; Truman, 1990; Robinow et al., 1993; Awad and Truman, 1997; Draizen et al., 1999; Brodsky et al., 2000; Choi et al., 2006; Tan et al., 2011; Winbush and Weeks, 2011).

그래서 Scuttle fly에서 발생 단계별로 corazonin 유전자가 발현되는 양상을 확인하기 위하여 애벌레 2령과 3령, 번데기, 성충 시기의 중추신경계 조직을 채집하여 각각 RNA를 추출하여 cDNA를 합성하여 증폭하고 전기영동상에서 직접 발생 단계별로 corazonin 뉴런의 유전자 변화를 확인해 보기로 하였다.

재료 및 방법

사육(feeding)

실험에 이용한 scuttle fly는 *Megaselia scalaris*라는 학명을 가진 fly이며, 초파리와 동일한 먹이를 이용하여 사육하였다. 사육을 위하여 증류수 250 mL에 dextrose 16 g, yeast flakes 6.5 g, commmeal 20 g, agar 2.25 g을 교반기를 이용하여 혼합하고 전자렌지에서 10분 정도 끓여 넘치지 않을 정도로 가열하였다. 그리고 methylparaben 6.25 mL를 천천히 떨어뜨려서 혼합하고 배지 통에 부은 후 식힌 다

음 성충을 이동시켜 사육을 하였다. 사육은 1주일 간격으로 다른 배지에 성충을 옮겨서 지속적으로 시행하였다. 제작된 사육 배지는 4°C 냉장고에 보관하였으며 사용 전 실온에 맞추기 위해 미리 꺼내 놓은 후 사용하였다.

중추신경계 조직의 채취(collection of CNS tissue)

Scuttle fly을 애벌레 시기 2령 2~3일, 3령 3~5일과 번데기 시기 그리고 성충 시기별로 개체를 사용하였다. 0.1% tween 20이 포함되어 있는 PBS (phosphate buffer solution, pH 7.0)가 채워져 있는 홈이 파인 슬라이드에 개체를 담근 상태로 실체현미경(stereomicroscopy) 상에서 가늘고 정밀한 핀셋을 이용하여 애벌레, 번데기, 성충의 껍질부분을 찢어가면서 중추신경계 조직인 대뇌와 복신경색 조직을 적출하여 채취하였다.

역전사중합효소연쇄반응(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)

Scuttle fly의 발생 단계별 애벌레 2령, 3령과 애벌레 3령의 뇌와 복신경색 분리 조직, 번데기, 성충 시기를 대상으로 역전사중합효소연쇄반응(RT-PCR)을 시행하였다.

RNA 추출

채취된 중추신경계 조직을 역전사 반응에 필요한 mRNA를 추출하기 위해 발생 단계별로 20개 이상의 중추신경계를 적출하여 200 µL PBS buffer (pH 7.0)가 들어 있는 microcentrifuge tube에 보관하였다. 채취가 완료된 조직이 tube에 가라앉으면 50 µL PBS buffer를 남기고 나머지는 조심스럽게 제거하였다. 약 50 µL의 PBS에 Trizol 200 µL 씩 넣고 15초간 voltex mixer (Scientific Industries INC, USA) 기에서 혼합한 후 5분간 실온에 세워 놓았다. TRI-reagent 1/5 volume 정도의 chloroform 40 µL를 각 tube에 넣고 voltex mixer에서 15초 정도 혼합한 다음, 15분간 실온에 세워 놓은 후 원심분리기(centrifuge)에서 4°C에서 12,000 rpm으로 15분간 원심분리 하였다.

원심분리가 끝난 tube에서 RNA가 포함된 상층액을 조심스럽게 취해서 새로운 tube에 옮겼다. 상층액이 담긴 tube에 RNA 침전용액과 isopropanol 용액(Sigma-Aldrich, St Louis, USA)을 각각 1/4 volume 정도를 추가한 후 15초 동안 voltex mixer기에 혼합하여, 10분 동안 tube를 실온에서 세워 놓은 다음 4°C에서 12,000 rpm으로 15분간 원심분리 시켰다.

원심분리가 완료되면 상층액을 조심스럽게 제거하고

70% ethanol(RNA용)로 2회 반복하여 vortex mixer 기에 15초 혼합 후 12,000 rpm에서 15분간 세척하여 원심침전 시켰다. 원심분리가 끝나면 70% ethanol을 완전히 제거 시키고 1시간 정도 실온에 건조시켰다. 다음으로 20 μ L DEPC 용액을 첨가하여 RNA를 추출을 완성하였다.

RT-PCR 반응

RNA에서 cDNA를 제작하기 위하여 0.5 mL tube에 RNA 용액 10 μ L와 DEPC 용액 20 μ L을 혼합한 후, tube를 65 $^{\circ}$ C서 5분 동안 RNA를 변성시킨 다음 바로 즉시 얼음물에 5분 동안 담가두었다.

변성시킨 RNA 30 μ L를 새로운 tube에 취하고 역전사 반응의 조성인 5x first-standard buffer, dNTP mix, DTT, RNase inhibitor, oligo-dT primer, MMLV reverse transcriptase (SMART MMLV RT, Clontech, USA)를 52 μ L를 혼합시킨 후 spin down하여 42 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 역전사(reverse transcription, RT) 반응을 시켰다. 제작된 cDNA는 혼성화 probe 제작 시 실시한 PCR 반응과 동일한 과정으로 PCR 증폭을 하였다.

Genomic DNA 추출

Scuttle fly의 발생 단계별 역전사중합효소연쇄반응(RT-PCR)을 통하여 만들어진 cDNA와 대조군으로 이용하기 위하여 애벌레 3령 중추신경계 조직에서 genomic DNA를 추출하였다.

애벌레 3령 중추신경계 조직이 담긴 1.5 mL tube에 STE buffer 500 μ L에 proteinkinase 12.5 μ L를 혼합하여 넣고 갈았다. 다음으로 50 $^{\circ}$ C 온수조에서 3시간 정도 반응 시켰다. 반응이 끝난 tube에 phenol 1 volume을 반응시켜 15,000 rpm에서 5분 정도 상온에서 원심침전 시키고 상층액을 새로운 tube에 옮겨 담은 후 다시 같은 방법으로 한번 더 반복하였다. 다음으로 상층액을 조심스럽게 새로운 tube에 옮기고 phenol과 chloroform을 1:1 비율로 1 volume을 반응시켜 15,000 rpm에서 5분 정도 상온에서 원심침전 시키고 상층액을 새로운 tube에 옮겨 담았다. 상층액을 옮긴 tube에 chloroform 1 volume을 첨가하고 15,000 rpm에서 5분 정도 상온에서 원심침전 시켜 상층액을 얻었다. 13% PEG 용액 1 volume과 반응시킨 뒤 얼음에 30분 정도 놓아둔 후 15,000 rpm에서 10분 정도 4 $^{\circ}$ C에서 원심침전 시키고 무거운 분자가 가라앉으면 상층액을 제거하였다. 70% ethanol에 수세한 후 다시 15,000 rpm에서 5분간 4 $^{\circ}$ C에서 원심침전 시킨 후 상층액을 제거하였다. Tube를



Fig. 1. Structure of Crz gene in scuttle fly A; map for the Crz coding region B; sequences of the genomic Crz gene The coding sequences are shown in capital letters and 5'-UT, intron, 3'-UT sequences are shown in lower case.

거꾸로 세워서 가라앉아 있는 DNA를 수시간 동안 충분히 건조시키고, 건조가 완료되면 증류수 50 μ L에 용해해서 genomic DNA를 추출하였다.

결 과

Scuttle fly에서 발생 단계별로 corazonin 유전자의 발현 양상을 확인하기 위하여 애벌레 2령과 3령, 번데기, 성충 시기의 중추신경계 조직을 채집하여 각각 RNA를 추출하여 cDNA를 합성 후 Scut5'Crz_HindIII primer와 Scut3'Crz_XbaI primer (Kim et al., 2013, Genbank KF318884.1)로 증폭하여 전기영동 상에서 밴드를 확인하였다(Fig. 1).

대조군으로는 corazonin cDNA 플라스미드와 성충 genomic DNA, 애벌레 3령 시기의 중추신경계 genomic DNA를 추출하여 이용하였다. cDNA는 유전자 길이가 372 bp로 증폭이 되었고, 인트론이 제거되지 않은 성충 genomic DNA와 애벌레 3령 시기의 중추신경계 genomic DNA는 59 bp의 인트론을 포함하여 유전자 길이가 431 bp로 증폭되는 것을 관찰하였다. 발생 단계별로 중추신경계의 유전자 증폭을 전기영동 상으로 확인해 보면, 애벌레 2령 시기에는 애벌레 2령, 3령과 번데기, 성충 시기 모두에서 대조군으로 사용한 cDNA의 길이와 같은 유전자가 증폭이 되는 것을 확인하였다. 이것은 corazonin 유전자 전사체가 정상적으로 가공되어 기능성의 mRNA가 만들어지는 것

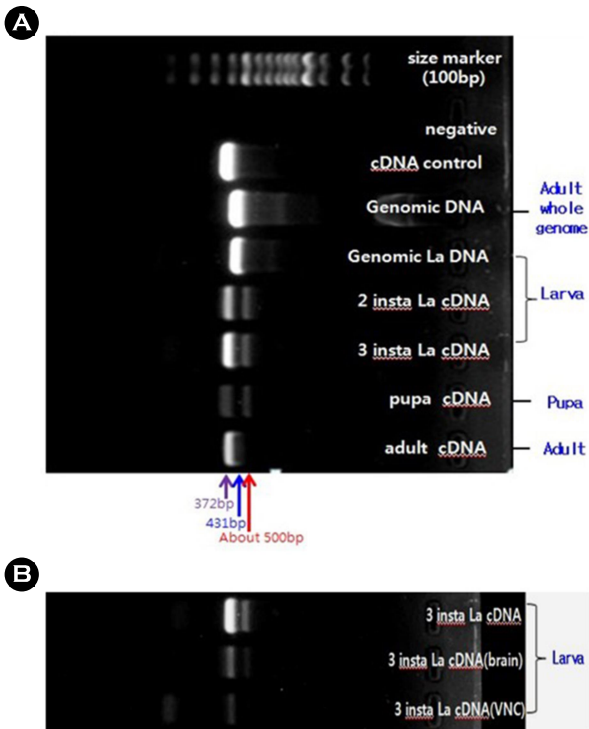


Fig. 2. RT-PCR amplification of Crz mRNA in the CNS of scuttle fly A; Changes of subtypes of Crz in CNS of scuttle fly during development B; Compartmentation of the subtypes of Crz in CNS of scuttle fly.

을 의미한다. 애벌레 2령, 3령, 번데기 시기에는 대조군 genomic DNA보다 길이가 긴 또 다른 corazonin 성숙한 아형(subtype)이 관찰되었는데 긴 corazonin 아형은 성충에서는 증폭이 되지 않았다(Fig. 2A).

우리는 제자리혼성화를 통해서 번데기 시기에 뇌의 등중양 뉴런 쌍과 복신경색 여덟 쌍 뉴런이 사라지는 것을 확인하였기 때문에, 성충에서 사라진 긴 아형의 corazonin 전사체가 복신경색 유형일 것으로 추정하였다. 길이가 긴 corazonin 유전자와 복신경색 조직과의 관련성을 확인하기 위해서 애벌레 3령 시기의 중추신경계의 대뇌와 복신경색 조직을 각각 분리시켜서 같은 방법으로 유전자를 증폭시켜 보았다. 그런데 대뇌 조직만을 분리한 것은 두 개의 corazonin 유전자가 증폭이 되었지만 복신경색 조직만을 분리한 것에서는 길이가 긴 유전자가 증폭이 되지 않은 것을 확인하였다. 그래서 길이가 긴 corazonin 유전자가 앞에서 추측했던 복신경색 조직과 관련이 있는 것이 아니라 대뇌 조직에서 발현되는 corazonin 뉴런과 관련이 있다는 것을 확인하였다(Fig. 2B).

Scuttle fly의 3령 애벌레 중추신경계에서 발현되는 두

가지 아형의 corazonin 유전자가 모두 뇌 부위에서 발현된다면 성충에서 사라지는 긴 아형의 corazonin은 뇌의 등중양 신경쌍과 관련이 있을 가능성이 크다. 앞으로 이 추측을 검증하기 위해 우리는 두 가지 아형의 corazonin cDNA를 서브클로닝(subcloning)하여 염기서열을 조사하고자 한다.

고 찰

Scuttle fly 발생 단계별로 중추신경계에서 발현되는 corazonin 유전자(Kim et al., 2013, Genbank KF318884.1)의 유형을 비교하기 위해 역전사중합효소연쇄반응을 시행하여 cDNA를 제작하여 PCR에 증폭을 시켰다. 애벌레 2령, 3령, 번데기 시기의 중추신경계 조직에서 대조군 cDNA와 같은 길이의 corazonin 유전자와 대조군 genomic DNA보다 길이가 긴 다른 한 개의 corazonin 유전자가 뚜렷하게 관찰되었다. 하지만 번데기 시기에는 다소 약하게 나타났고, 성충 시기에는 대조군인 cDNA와 같은 길이의 유전자만 강하게 나타나는 것을 확인하였다. 이것은 애벌레에서 번데기 시기로, 번데기에서 성충 시기로 변태가 이루어질 때 corazonin 뉴런이 제거되는 것과 유전자가 발현되는 것과의 상호 관련성이 있다는 것으로 생각되었다. 그래서 하나의 길이가 긴 corazonin 유전자가 성충 시기에 나타나지 않는 것으로 보아 처음에 복신경색과 관련이 있을 것이라고 추측하였다.

애벌레에서 번데기로 변태하는 동안에 복신경색 조직에서의 corazonin 뉴런이 제거되는 것과 상관관계를 확인해 보기 위하여 애벌레 3령 시기의 중추신경계 조직을 대뇌와 복신경색 조직을 각각 분리하여 RNA를 추출하여 cDNA를 만들어 corazonin 유전자를 증폭을 시켜 보았다. 그런데 애벌레 3령 시기의 대뇌 조직만 분리한 것에서 애벌레 2령과 3령, 번데기 시기와 같이 길이가 다른 두 개의 corazonin 유전자가 약하게 나타났고, 복신경색 조직만 분리한 것에서는 다르게 길이가 긴 유전자는 나타나지 않았고 길이가 작은 하나의 corazonin 유전자만 나타났다. 이것으로 보았을 때, 길이가 긴 하나의 유전자가 대뇌에서 분비되는 corazonin 뉴런과 밀접한 관계가 있다는 것을 확인하였다. 그리고 번데기 시기에 나타난 두 개의 corazonin 유전자는, 애벌레에서 번데기로 변태되면서 복신경색 조직의 corazonin 발현 뉴런이 제거되고 아울러 대뇌 조직의 등중양에 위치한 corazonin 발현 뉴런이 제거가 되어 보이지 않았지만 아직까지 완전하게 제거가

되지 않아서 약하게 나타난다는 것으로 추측해 볼 수 있었다. 성충에서는 길이가 작은 하나의 유전자만 강하게 나타나고 있는데 번데기에서 성충 시기로 변태될 때 등 중앙의 corazonin 뉴런이 완전히 제거가 되었기 때문에 성충 시기의 대조군 cDNA와 같은 길이의 유전자만 강하게 나타난다고 생각하였다.

위와 같이 최근에 corazonin에 대해 연구가 많이 되어지고 있는 *Drosophila melanogaster*를 대상으로 하여, 아직 corazonin에 대해 연구가 되어 있지 않고, 또한 다른 곤충에 비해 독특한 행동을 보이는 scuttle fly를 대상으로 발생 단계인 애벌레, 번데기, 성충 시기에 따라 corazonin 발현 뉴런의 생성과 사멸 과정의 변화 등을 비교 확인하였다. 그리고 corazonin 발현 뉴런의 생성과 사멸에 관여하는 두 개의 corazonin 유전자가 존재한다는 것을 확인하였다.

앞으로 위의 연구를 바탕으로 scuttle fly의 발생 단계에 따른 corazonin 뉴런과 세포자연사(apoptosis)와의 상호관계를 규명함으로써 corazonin 신경펩티드가 하는 역할 및 기능 등에 관해서 통일된 결론이 나올 수 있을 것으로 기대가 된다.

ACKNOWLEDGEMENT

The study was supported by reserch find Mokpo Science University, 2023.

CONFLICT OF INTEREST

The authors affirm that they have no academic, financial or rights interests.

REFERENCES

- Awad TA, Truman JW. Postembryonic development of the midline glia in the CNS of *Drosophila*: proliferation, programmed cell death, and endocrine regulation. *Dev Biol.* 1997. 187: 283-297.
- Brodsky MH, Nordstrom W, Tsang G, Kwan E, Rubin GM, Abrams JM. *Drosophila* p53 binds a damage response element at the reaper locus. *Cell.* 2000. 101: 103-113.
- Choi SH. "The Regulation of Neuropeptide Corazonin and Its Functional Analyses in *Drosophila melanogaster*." PhD diss., University of Tennessee. 2009.
- Choi YJ, Lee G, Park JH. Programmed cell death mechanisms of identifiable peptidergic neurons in *Drosophila melanogaster*. *Development.* 2006. 133: 2223-2232.
- Choi YJ, Lee G, Hall JC, Park JH. Comparative analysis of Corazonin-encoding genes (Crz's) in *Drosophila* species and functional insights into Crz-expressing neurons. *J Comp Neurol.* 2005. 482: 372-385.
- Draizen TA, Ewer J, Robinow S. Genetic and hormonal regulation of the death of peptidergic neurons in the *Drosophila* central nervous system. *J Neurobiol.* 1999. 38: 455-465.
- Karcavich R, Doe CQ. *Drosophila* neuroblast 7-3 cell lineage: a model system for studying programmed cell death, Notch/ Numb signaling, and sequential specification of ganglion mother cell identity. *J Comp Neurol.* 2005. 481: 240-251.
- Kim J, Kim JW, Park JH. Characterization and expression of corazonin gene in the scuttle fly, *Megaselia scalaris*. 2013. GenBank; KF318884.1
- Kimura KI, Truman JW. Postmetamorphic cell death in the nervous and muscular systems of *Drosophila melanogaster*. *J Neurosci.* 1990. 10: 403-411.
- Lee G, Kim KM, Kikuno K, Wang Z, Choi YJ, Park JH. Developmental regulation and functions of the expression of the neuropeptide corazonin in *Drosophila melanogaster*. *Cell Tissue Res.* 2008. 331: 659-673.
- Lee G, Wang Z, Sehgal R, Chen CH, Kikuno K, Hay B, Park JH. *Drosophila* caspases involved in developmentally regulated programmed cell death of peptidergic neurons during early metamorphosis. *J Comp Neurol.* 2011. 519: 34-48.
- Lundell MJ, Lee HK, Pe'rez E, Chadwell L. The regulation of apoptosis by Numb/Notch signaling in the serotonin lineage of *Drosophila*. *Development.* 2003. 130: 4109-4121.
- Novotny T, Eiselt R, Urban J. Hunchback is required for the specification of the early sublineage of neuroblast 7-3 in the *Drosophila* central nervous system. *Development.* 2002. 129: 1027-1036.
- Park HH. The Development Stage of Scuttle Fly. *Biomedical Laboratory Sciences.* 2018. 24: 125-129.
- Park HH. The Expression of Corazonin Neurons in Larvae Stage of Scuttle Fly. *Biomedical Laboratory Sciences.* 2020. 26: 1-9.
- Park HH. The Expression of Corazonin Neurons in Pupa and Adult Stage of Scuttle Fly. *Biomedical Laboratory Sciences.* 2021. 27: 239-247.
- Park HH. Morphological Characteristics of Neural Tissue and Corazonin Neurons of Central Nervous System in Larvae Stage of Scuttle Fly. *Biomedical Laboratory Sciences.* 2022. 28: 290-297.
- Park HH, Park MS, Na KJ. Development of Central Nervous

- System in Scuttle Fly. *Korean J Clin Lab Sci.* 2018. 50: 284-288.
- Robinow S, Talbot WS, Hogness DS, Truman JW. Programmed cell death in the *Drosophila* CNS is ecdysone-regulated and coupled with a specific ecdysone receptor isoform. *Development.* 1993. 119: 1251-1259.
- Tan Y, Yamada-Mabuchi M, Arya R, St Pierre S, Tang W, Tosa M, Brachmann C, White K. Coordinated expression of cell death genes regulates neuroblast apoptosis. *Development.* 2011. 138: 2197-2206.
- Truman JW. Metamorphosis of the central nervous system of *Drosophila*. *J Neurobiol.* 1990. 21: 1072-1084.
- Winbush A, Weeks JC. Steroid-triggered, cell-autonomous death of a *Drosophila* motoneuron during metamorphosis. *Neural Dev.* 2011. 6: 15.

<https://doi.org/10.15616/BSL.2023.29.4.330>

Cite this article as: Park H. Expression of Corazonin Gene by Developmental Stage of Scuttle Fly. *Biomedical Science Letters.* 2023. 29: 330-335.