Potential Role of Genetic Engineering in Pest Management

Kisang Kwon¹, Bok Jo Kim¹, Kweon Yu² and O-Yu Kwon^{3*}

¹Department of Biomedical Laboratory Science, College of Health & Welfare, Kyungwon University, Gumi 730-739, Korea

²Neurophysiology Research Group, Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, Taejeon 305-806, Korea

³Department of Anatomy, College of Medicine, Chungnam National University, Taejeon 301-747, Korea

Received July 5, 2013 / Revised July 19, 2013 / Accepted July 19, 2013

Genetic engineering, which was started by the E. coli gene manipulation, has led to rapid development in all area of life sciences. Recently, genetic engineering, which is an insertion or a removal technique of a specific gene on chromosomes, has been established and is usefully available in the applied life sciences including medicine and agriculture. In this review, we briefly explain pest management focusing on Release of Insects carrying a Dominant Lethal (RIDL) that is a highly economic and environment-friendly method of biological pest control. Although at present RIDL confronts many difficulties in applying directly in fields, it will be one of the best methods for the pest management in the near future without pesticides and disturbing ecosystem by the continued development of genetic engineering. However, these powerful techniques must be considered with great care to avoid harm to ecosystem.

Key words : Genetic engineering, Release of Insects carrying a Dominant Lethal (RIDL), pest management

유전자를 자유롭게 다룰 수 있는 유전공학(genetic engineering)의 발전에 의해서 곤충의 유전자기능해명도 급속하게 발달하고 있다. 특히 외래유전자를 계놈에 도입하는 기술이 개발되면서 더욱 활발하게 이루어지고 있다. 계놈분석이 완성되지 않은 비모델곤충도 expressed sequence tag (EST)정보와 비교계놈정보를 생물정보학의 기법을 적절하게 이용함으로써, 효과적으로 유전자기능해석과 응용연구를 진행하는 것이 가능하다. 지금까지 초파리[40]를 포함하여 약 4목20종 이상의 곤충에서 유전자조작이 가능하다[4, 24, 25, 28, 42, 43].

현재의 유전공학기술로는 모델곤충에서 도입된 유전자를 원하는 시기와 장소에 발현시키는 작업은 아주 쉬운 일이다. 이 같은 기술은 조금의 변형과정을 거치면 여러 종류의 해충을 포함한 비모델곤충에도 어렵지 않게 적용될 수 있다. 널리 사용되는 유전자발현 프로모터는 곤충의 전신에 강하게 발현하는 actin, tubulin과 heat shock protein이 대표적이다. 그러나 도입된 유전자는 염색체의 진화압(evolutionary pressure) 중의 하나인 위치효과(chromosomal position effect; negative autosomal chromatin environment)를 받기 때문에, 위치효과

를 억제시켜서 도입유전자가 안정적으로 유지할 수 있도록 유전자가 삽입되는 주변의 프로모터와 enhancer의 영향을 차단하기 위하여 autosomal insertion 배열을 사용하기도 한다 [37]. 곤충의 유전자조작기법 중 가장 널리 사용되고 있는 것은 binary expression system인 GAL4/UAS system이다. 이 시스템은 초파리에서 효모의 전사인자인 GAL4가 상류활성배열(upstream activation sequence: UAS)에 결합하여 하류의 유전자를 활성화시키는 원리를 이용한 것으로 1993년에 Brand 박사팀에 의해서 개발되었다[6] (Fig. 1). 이 시스템은 모델곤충인 초파리연구를 통해서 단세포가 아닌 개체수준에서 사용될 수 있는 유전자분석법으로 증명되었으며, 형질전환체를 통한 타 곤충의 유전자기능분석도 가능하게 되었다. 최근에 Gehring박사팀에 의해서 개발된 Tet-Off (tTA/TRE)계 및 Tet-On (rtTA/TRE)계는 tetracycline-controlled transactivator (tTA)가 결합배열(tTA response element: TRE)을 매개로 하여 도입유전자의 발현을 활성화할 수 있다. reverse tTA (rtTA)의 경우는 역으로 불활성화도 가능하다. 그렇지만 tetracycline 혹은 doxycycline을 투여하면 tTA과 rtTA에 결합하여 이들의 기능을 저하시키기 때문에, 도입유전자발현을 인위적으로 on/off할 수 있는 효율적인 시스템이다[3] (Fig. 2). 그 외에 곤충형질전환법으로는 P element insertion을 통해서 mutagenesis를 유도하는 transposon mutagenesis법[11], piggyBac-based insertional mutagenesis법[22], 유도형 RNAi법[13], homologous recombination법[36], BAC transgenesis법[45] 등이 개발되었다. 최근에는 zinc-finger endonuclease (ZFN)과 TAL effector nucleases (TALENs)를 사용한 trans-

*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.

Fig. 1. GAL4/UAS system. Two transgenic fly lines are created. In the first (UAS - human-transgene fly), the human disease-related transgene is placed downstream of a UAS activation domain that consists of GAL4-binding sites. GAL4 is a yeast transcriptional activator; in the absence of ectopically expressed GAL4, the transgene is inactive in these transgenic flies. The transgene is activated by crossing these flies to transgenic flies that express GAL4 (enhancer-trap GAL4 fly). The GAL4 gene is placed downstream of a cell- or tissue-specific promoter. Examples include the pan-neural promoter elav (embryonic lethal, abnormal vision) or the eye-specific promoter GMR (Glass Multimer Reporter). So, the transgene will be activated in the progeny of this cross in a specific cell or tissue type, depending on the 'driver' (derived from ref. 30).

genesis법이 개발되어 원하는 어떤 유전자라도 간단하고 확실하게 게놈으로부터 제거시킨 형질전환곤충을 만들 수 있게 되었다[5, 39]. 가까운 미래에는 ZFN 혹은 TALEN 기전을 분자수준에서 조절함으로써 생태계교란 없이 horizontal gene drive개념에 충실한 농업해충방제 및 위생곤충방제에 사용될 수 있는 가능성을 보인다[41].

형질전환곤충을 만들기 위해서는 외부유전자를 게놈속으로 도입하기 위하여 특수한 벡터가 필요하다. 1950년 Barbara McClintock박사는 옥수수 낱알의 색깔연구를 통해서 게놈상에서 자유롭게 이동하는 DNA조각(mobile genetic element, transposon)을 발견하여 1983년에 노벨 의학생리상을 받음으로써 비멘델법칙에 의한 돌연변이를 설명하였다. 즉, 이같이 게놈에 외부유전자를 도입할 수 있는 벡터로서 transposon을 사용하여 생식세포계열의 형질전환(germ line transformation)을 하게 되었다. 생식세포계열에 유전자가 도입되지 않으면 다음세대에 유전자가 전달되지 않아서 단회성 형질전환체가

Fig. 2. RIDL (release of insects carrying a dominant lethal) technology. (A) the positive feedback system is composed of a tetO binding domain, a minimal promoter and the tTA gene. Without the repressor (B), the minimal promoter induces production of a small amount of tTA, which then binds to the tetO binding sites. The binding of tTA enhances expression of more tTA, which in turn binds to more tetO sites. This positive feedback loop results in the production of tTA, which, at high enough levels, are deleterious to cells. (C) The repressor is able to bind to tTA and block it from binding to tetO, turning off the positive feedback loop and only a basal amount of tTA is produced, which is harmless to the cells (derived from <http://www.oxitec.com/ridl-science/understanding-ridl-science/molecular-biology>).

된다. 최초의 곤충형질전환은 1982년 *D. melanogaster*에서 초파리의 P인자를 이용하여 성공하였다[38]. 초파리의 transposon인 P인자가 외래유전자를 게놈에 도입하는 벡터로 사용된 이후로 P인자를 활용한 기술개발이 아주 활발하게 이루어졌다. P인자는 2,907 bp의 양말단에 완전한 31 bp와 불완전한 11 bp의 역 반복배열을 가지고 있으며, 초파리간의 horizontal transfer는 증명되어 있지 않다. 그리고 P인자는 초파리 이외에는 사용할 수 없기 때문에 다른 곤충에 적용될 수 있는 또 다른 transposon이 요구되고 있다. 실제로 곤충의 염색체를 자유롭게 이동할 수 있는 transposon과 비슷한 성질을 가진 여러 종류의 DNA조각이 존재하는 것이 게놈분석결과 알려지고 있으며 생물정보학을 통해서 분류가 시작되고 있다. 각각의 곤충에 적합한 transposon 개발과 함께 곤충에 범용으로 사용할 수 있는 transposon 개발이 활발하게 이루어지고 있다. 지금까지 알려진 P인자 이외의 transposon은 다음과 같다 (Fig. 3). Mariner는 불완전한 흰눈돌연변이 초파리(*D. mauritiana*)에서 분리된 1,286 bp (ORF 346 aa)의 양말단에 역 반복배열을 갖고 있으며, 게놈당 20 copy를 가지고 있다[10, 23]. 미생물, 누에, zebrafish, 식물에서도 형질전환이 가능하다. 최근 연구결과 mariner transposon은 진화적으로 mammal과 insect에 horizontal transfer한 것이 증명되었다[34]. Hermes

Fig. 3. Structural characteristics of representative cut-and-paste DNA transposons in insects. The name of each representative transposon, its host species, and its approximate length are shown as the heading of each panel. Open arrows indicate target site duplications (TSDs); filled triangles indicate terminal and subterminal inverted repeats. The lengths of these inverted repeats are marked. Exons are shown as open boxes, and introns are shown as filled black boxes. 5' and 3' untranslated regions are not shown (Insect Mol Biol Biochem, edited by Lawrence Irwin Gilbert, pp 57-89).

는 집파리(*Musca domestica*) [46]에서 분리되었으며 양 말단에 완전하지 않은 17 bp의 역 반복배열을 가진 2,749 bp의 전이인자(ORF 612 aa)로서 hobo transposase와 약 55% 단백질 상동성을 가진다. *D. melanogaster* [35] 이외의 곤충인 지중해광대파리(*Ceratitis capitata*) [29], 침파리(*Stomoxys calcitrans*) [33], 거릿쌀도둑거저리(*Tribolium castaneum*) [4], 이집트숲모기(*Aedes aegypti*) [24], 집모기(*Culex quinquefasciatus*) [19]에서도 형질전환이 가능하다. Minos [27]는 Tc1-like type 2 transposable element로서 *D. hydei*에서 발견되었으며 1.4 kb의 유전자로 양 말단에 100 bp의 역 반복배열을 갖고 있다. 농업적으로 중요한 해충인 *Ceratitis capitata* [27]을 포함하여 *D. melanogaster* [28], 얼룩날개모기(*Anopheles stephensi*) [8]의 형질전환에 사용할 수 있어서 Sensitization of Insect Populations to Pro-insecticides (SIPP)의 가능성을 높이고 있다. 한편 곤충의 Minos는 인간배양세포/생쥐 germ cell

에서도 발현한다. PiggyBac transposase는 transposon 특이의 inverted terminal repeat sequences (ITRs)를 인식하여 TTAA chromosomal site에 들어갈 수 있다. piggyBac의 가장 큰 특징은 역전시키는 내재성 transposon이 존재하지 않기 때문에 게놈중의 TTAA배열을 정확하게 인식하여 게놈에 들어간 외래 유전자를 안정적으로 몇 세대를 지나도 유지할 수 있는 것이다. 더욱이 P인자는 유전자의 상류영역에 넣기 쉽지만 piggyBac은 거의 무작위로 게놈에 삽입되며, 삽입할 수 있는 외래 유전자의 길이도 약 100 kb 정도의 DNA단편도 가능하며, 사용될 수 있는 대상이 아주 넓기 때문에 형질전환벡터로서 더욱 바람직한 특성을 가지고 있다[45]. 한편 최근에는 사람게놈연구결과 piggyBac과 약 77% 정도의 염기서열 상동성을 보이는 MER75/MER85가 알려지면서, piggyBac의 우수한 형질전환 능력은 곤충을 뛰어넘어 포유동물의 stem cell 스크린과 유전자치료용 벡터로도 주목을 받고 있다[16, 49]. 그 외에 baculoviruses AcMNPV/GmMNPV [2, 7, 14], Bombyx 28S rDNA에 존재하는 R1/R2 [50] 등이 대표적인 것들이다.

한편, 형질전환곤충을 효율적인 선별하기 위해서는 사람 눈으로 직접 구별할 수 있는 적절한 marker가 필요하다. 초파리는 눈색과 몸색의 열성돌연변이체로 white, rosy등의 유전자와 조합한 마커를 사용하고 있다. 현재 널리 사용되는 형광마커 유전자는 이용 가능한 돌연변이체종이 없는 곤충에서도 우수한 마커가 될 수 있다. 여러 종류의 곤충에서 기능을 하는 형광단백질유전자마커와 piggyback 등의 transposon을 조합한 단백질이 잘 연구되어 있다[21]. 즉 transposon 염기서열 사이에 생물종간에 고도로 보존되어 3xP3 프로모터를 삽입한다. 이때에 3xP3에 각각의 EGFP, EYFP, ECFP를 붙여서 사용하게 된다. 이같이 우수한 인공프로모터는 눈과 신경에 강하게 형광단백질마커를 발현시켜서 관찰하기 쉽기 때문에 폭넓은 곤충 종에 이용된다.

여러 종류의 곤충 중에서 유전자조작이 가능하며, 도입한 유전자의 발현제어가 가능해지면서 해충방제(pest control) 및 곤충매개 전염성질병의 제거에 응용되고 있다[32, 48]. 최근의 해충방제는 대상 해충을 전부 죽이는 것 보다는 생태계 전체의 균형을 깨지 않는 범위 내에서 해충개체를 조절하는 해충관리(pest management)개념을 중시하고 있다. 그 중의 한 방법으로 유전자조작에 의한 해충방제에는, 방사선조사로 염색체에 상처를 주어 불임화한 개체를 생산하여 대량으로 야외에 방출하여서 특정 종을 광범위하게 제어하는 '불임곤충방사법'(sterile insect technique: SIT)이 시도되었다[31]. 그러나 종래의 SIT는 방사선조사를 위한 대량시설이 필요한 것과 유도된 불임원인이 한 가지가 아닌 것, 임신회복과 불임곤충의 경쟁력저하가 일어나는 등 여러 가지 문제점이 발생하여 유전자변형생물체(living modified organisms: LMO)법을 준수하기가 어렵게 되었다. 그래서 최근에 더욱 정교한 '지배적 치사곤충 방사법'(Release of insects Carrying a Dominant Lethal:

RIDL)이라고 불리는 새로운 SIT가 제안되었다[44]. RIDL은 유전자조작에 의한 불임화가 특정조건하에서만 우성치사가 되는 유전자를 계놈에 도입한 것으로서 보다 효과적이고 친환경적 SIT가 가능하다[1, 18]. 우성치사유도에 사용되는 유전자는, 과잉 발현시키면 세포사를 일으키는 pro-cancer 유전자와 apoptosis를 유도하는 유전자를 주로 사용한다. 치사유전자를 가진 개체를 야생집단과 교미를 시키면 배 발생의 초기단계에 치사유전자가 발현함으로써 자손번식을 중단 시키는 것이 가능하다. 야외방사를 하기 전에 치사유전자를 가진 개체를 실험실에서 대량증식을 할 필요가 있는데, 이 과정에서 치사유전자가 발현하지 않도록 하는 특정조건하에서만 유전자발현이 가능한 시스템을 사용한다. 가장 많이 사용되는 것은 대장균의 tetracycline 내성 오페론을 사용한 발현제어 시스템(Tet-Off)이다. 아래의 Fig. 2에서 보는 것과 같이 전사조절 응답인자(tTA-response element: TRE)의 하류에 치사유전자를 달아두어, 치사유전자를 가진 개체증식시에는 tetracycline이 함유된 배지에 사육하면 tetracycline 제어활성인자(tetracycline-controlled transactivator: tTA)가 TRE와 결합이 방해를 받아서 치사유전자는 발현하지 않기 때문에 실험증식이 가능하다. 이 시스템은 파리목, 나비목 및 벌목의 몇 종류에서 정상적으로 작동한다. 지중해광대파리(*Ceratitis capitata*)에서는 과발현하여 축적된 tTA만으로도 치사작용이 확인되어서, 치사유전자를 tTA로 대용하여 자기제어가 될 수 있다면 보다 간단하고 편리한 우성치사를 달성할 수 있을 것이다[17].

곤충유전자조작에 많이 사용되는 것은 transposon 유래의 벡터를 이용한 생식세포계열의 형질전환(germ line transformation)이지만, 여기에는 내재성전이효소가 있으면 계놈 중에서 외래의 유전자가 잘려서 버려질 수 있는 위험성이 있다. 전이효소는 벡터의 도입유전자양말단에 붙어서 역방향말단반복배열(inverted terminal repeats: ITR)을 인식하여 전이시키기 때문에 계놈 중에 외래유전자를 전이시킨 다음에는 ITR부분을 제거함으로써 도입유전자를 움직이지 않게 한다. 이 같은 문제점을 극복하기 위하여 효율적으로 전이효소를 제거하는 기술이 개발되었다. 벡터가 도입된 유전자조작계통을 전이효소를 만드는 계통과 교미시켜서 전이효소에 노출시킨다[12]. 이와 같은 교미를 아래의 그림과 같이 반복하면은 도입하려는 유전자만 남고 ITR를 포함한 transposon 유래의 배열을 완벽하게 계놈에서 제거할 수 있다(Fig. 4). 이 같은 유전자조작곤충은 기술적으로는 더욱 발전하여, 가까운 시간 내에 실제 해충방제에 제한적으로나마 이용이 가능할 것으로 생각된다.

직접적으로 피해를 주는 농업해충과 병원성 매개곤충의 대부분은 암컷이지만, 생태계를 고려할 때 모든 자손을 죽일 필요는 없다. tTA를 암컷 특이적으로 발현하는 유전자의 프로모터로 조절한다는 지, 아니면 암컷특이적인 치사유전자를 사용하면 RIDL에 의한 방제대상을 암컷으로 제한할 수 있다.

Fig. 4. Strategy for post-integration removal of transposon ends from transposon-mediated insertions. The initial transformation uses a plasmid carrying a composite transposon comprising two pairs of opposed transposon ends. This has four potential transposons (A-D, A-B, C-D and C-B). Insertion of the desired A-D transposon is identified by selecting for marker M2, which marks the central region. The flanking transposons A-B and C-D can then be eliminated by reexposure to transposase; in principle two rounds of post-integration exposure are required to remove both flanking transposons. The final insertion no longer has any transposon ends and is therefore inert to transposase (derived from ref. 12).

그리고 성 특이적 spicing에 의한 성 결정 메커니즘을 가진 곤충에서는, 도입하는 치사유전자의 ORF내에 암컷에서만 제거되는 intron배열을 삽입시켜서 암컷만 치사될 수 있는 시스템도 개발되어 있다[15]. 비록 살아남은 수컷일지라도 암컷 특이적인 유전자를 가지고 있기 때문에 다음세대에서도 불임곤충이 된다. 병원성 매개곤충의 제어에도, 개체군이 광범위하게 분포한 것과 감염개체의 이동을 고려하면 RIDL보다는 감염성과 전파를 억제할 수 있는 유전자를 도입하는 것이 현실적이다. 말라리아를 매개하는 *Anopheles*속의 몇 종에는 자연면역시스템에 관여하는 유전자와 말라리아원충의 타액으로의 이동을 방해하는 유전자를 도입하면 말라리아의 life cycle이 방해를 받는다[9]. 그리고 말라리아원충이 감염하는 적혈구를 녹이는 작용을 하는 유전자를 도입하면 효과적으로 말라리아 전파를 막을 수 있다[51]. 본 연구팀에서는 생태계교란을 최소화하며 적정수준의 작물보호를 보장하기 위하여 곤충호르몬의 일종인 *D. melanogaster* short neuro peptide F (sNPF)를 이용하여 식용억제 신호전달기전을 조절할 수 있는 가능성을 제시하였다. 즉, sNPF의 발현을 억제시키면 식욕이 감소되어

Fig. 5. The model of sNPF regulation through the FOXO-NPY pathway. In the hypothalamus of hDyrk1a transgenic mice, Dyrk1a was increased and FoxO1 acetylation was reduced compared with those of the litter mate control mice. NPY mRNA from hypothalamus and serum NPY were increased in hDyrk1a transgenic mice. Daily food intake was increased in hDyrk1a transgenic mice compared with the littermate controls. Average food intake of hDyrk1a transgenic mice increased by 15% (derived from ref. 20).

전체개체숫자를 생태계교란이 일어나지 않는 범위에서 해충을 조절할 수 있을 것이다[20, 26] (Fig. 5).

여러 종류의 transposon과 관련기술이 발전하면서 비모델 곤충에서의 유전자조작기술이 성공적으로 이루어지고 있다. 이 같은 형질전환곤충을 이용한 해충방제는 종래의 SIT보다가 더욱 정교하게 대상 해충의 개체군을 줄이거나 특정 해충을 죽일 수 있게 되었다. 특히 각 해충에서 특이적으로 조절할 수 있는 범용성 고효율백터가 개발된다면 분자수준에 바탕을 둔 종합적인 해충관리가 이루어질 것이다. 물론 분자해충관리 시스템은 해충의 생태계를 심하게 교란하지 않는 범위에서 이루어져야 되기 때문에, 본 연구팀에서 진행되고 있는 sNPF 신호전달의 조절함으로써 대상 해충의 식이조절과 몸의 크기를 조절할 수 있을 것이다. sNPF는 신경세포에서 발현 생산되고 분비되어 다양한 신경세포 막에 존재하는 sNPF 수용체에 결합하여 sNPF 신호전달을 활성화한다. sNPF를 이용한 분자해충조절기술은 급격한 생태계변화를 초래하지 않는 범위 내에서 대상해충의 개체군을 감소시킬 수 있을 것이다. 한편, 형질전환곤충의 실용화에서 가장 큰 문제 중의 하나가 도입된 유전자가 진화압에 의해서 세대전달과정에서 안정적으로 전달되지 못하는 것이다. 아직 해결해야 할 많은 문제점을 가지고 있지만 비교적 효율적으로 해충계대사육과정에서 ITR부분을 반복적으로 제거하는 시스템이 최근에 개발되었다. 그리고 암수 성별차이를 이용한 제한통제방법을 포함한 유전자조작 기술은 당장이라도 포장에 적용시킬 수 있는 수준이다. 현실점에서 유전자조작기술을 통한 해충방제의 실용화를 위해서는 LMO의 안전성과 생태계순화, 그리고 사회적 인정의 범위를 넓히는 것도 병행되어야 할 것이다. 유전공학기술의 발전

과 함께 분자수준에 바탕을 둔 해충관리가 실용화될 수 있는 미래가 기대된다.

References

- Alphey, L. S. 2002. Re-engineering the sterile insect technique. *Insect Biochem Mol Biol* **32**, 1243-1247.
- Bauser, C. A., Elick, T. A. and Fraser, M. J. 1996. Characterization of hitchhiker, a transposon insertion frequently associated with baculovirus FP mutants derived upon passage in the TN-368 cell line. *Virology* **216**, 235-237.
- Bello, B., Resendez-Perez, D. and Gehring, W. J. 1998. Spatial and temporal targeting of gene expression in Drosophila by means of a tetracycline-dependent transactivator system. *Development* **125**, 2193-2202.
- Berghammer, A. J., Klingler, M. and Wimmer, E. A. 1999. A universal marker for transgenic insects. *Nature* **402**, 370-371.
- Bibikova, M., Golic, M., Golic, K. G. and Carroll, D. 2002. Targeted chromosomal cleavage and mutagenesis in Drosophila using zinc-finger nucleases. *Genetics* **161**, 1169-1175.
- Brand, A. H. and Perrimon, N. 1993. Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes. *Development* **118**, 401-415.
- Cary, L. C., Goebel, M., Corsaro, B. G., Wang, H. G., Rosen, E. and Fraser, M. J. 1989. Transposon mutagenesis of baculoviruses: analysis of Trichoplusia ni transposon IFP2 insertions within the FP-locus of nuclear polyhedrosis viruses. *Virology* **172**, 156-169.
- Catteruccia, F., Nolan, T., Blass, C., Muller, H. M., Crisanti, A., Kafatos, F. C. and Loukeris, T. G. 2000. Toward Anopheles transformation: Minos element activity in anopheline cells and embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**, 2157-2162.
- Christophides, G. K. 2005. Transgenic mosquitoes and malaria transmission. *Cell Microbiol* **7**, 325-333.
- Coates, C. J., Jasinskiene, N., Miyashiro, L. and James, A. A. 1998. Mariner transposition and transformation of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 3748-3751.
- Cooley, L., Kelley, R. and Spradling, A. 1988. Insertional mutagenesis of the Drosophila genome with single P elements. *Science* **239**, 1121-1128.
- Dafa'alla, T. H., Condon, G. C., Condon, K. C., Phillips, C. E., Morrison, N. I., Jin, L., Epton, M. J., Fu, G. and Alphey, L. 2006. Transposon-free insertions for insect genetic engineering. *Nat Biotechnol* **24**, 820-821.
- Dietzl, G., Chen, D., Schnorrer, F., Su, K. C., Barinova, Y., Fellner, M., Gasser, B., Kinsey, K., Oppel, S., Scheiblaue, S., Couto, A., Marra, V., Keleman, K. and Dickson, B. J. 2007. A genome-wide transgenic RNAi library for conditional gene inactivation in Drosophila. *Nature* **448**, 151-156.
- Fraser, S. E. and Bryant, P. J. 1985. Patterns of dye coupling in the imaginal wing disk of *Drosophila melanogaster*.

- Nature* **317**, 533-536.
15. Fu, G., Condon, K. C., Epton, M.J., Gong, P., Jin, L., Condon, G. C., Morrison, N. I., Dafa'alla, T.H. and Alphey, L. 2007. Female-specific insect lethality engineered using alternative splicing. *Nat Biotechnol* **25**, 353-357.
 16. Gray, L. T., Fong, K. K., Pavelitz, T. and Weiner, A. M. 2012. Tethering of the conserved piggyBac transposase fusion protein CSB-PGBD3 to chromosomal AP-1 proteins regulates expression of nearby genes in humans. *PLoS Genet* **8**, e1002972.
 17. Gong, P., Epton, M. J., Fu, G., Scaife, S., Hiscox, A., Condon, K. C., Condon, G. C., Morrison, N. I., Kelly, D. W., Dafa'alla, T., Coleman, P. G. and Alphey, L. 2005. A dominant lethal genetic system for autocidal control of the Mediterranean fruitfly. *Nat Biotechnol* **23**, 453-456.
 18. Handler, A. M. 2004. Understanding and improving transgene stability and expression in insects for SIT and conditional lethal release programs. *Insect Biochem Mol Biol* **34**, 121-130.
 19. Hediger, M., Niessen, M., Wimmer, E. A., Dübendorfer, A. and Bopp, D. 2001. Genetic transformation of the housefly *Musca domestica* with the lepidopteran derived transposon piggyBac. *Insect Mol Biol* **10**, 113-119.
 20. Hong, S. H., Lee, K. S., Kwak, S. J., Kim, A. K., Bai, H., Jung, M. S., Kwon, O. Y., Song, W. J., Tatar, M. and Yu, K. 2012. Minibrain/Dyrk1a regulates food intake through the Sir2-FOXO-sNPF/NPY pathway in *Drosophila* and mammals. *PLoS Genet* **8**, e1002857.
 21. Horn, C., Jaunich, B. and Wimmer, E. A. 2000. Highly sensitive, fluorescent transformation marker for *Drosophila* transgenesis. *Dev Genes Evol* **210**, 623-629.
 22. Horn, C., Offen, N., Nystedt, S., Häcker, U. and Wimmer, E. A. 2003. piggyBac-based insertional mutagenesis and enhancer detection as a tool for functional insect genomics. *Genetics* **163**, 647-661.
 23. Jacobson, J. W., Medhora, M. M. and Hartl, D. L. 1986. Molecular structure of a somatically unstable transposable element in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA* **83**, 8684-8688.
 24. Jasinskiene, N., Coates, C. J., Benedict, M. Q., Cornel, A. J., Rafferty, C. S., James, A. A. and Collins, F. H. 1998. Stable transformation of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*, with the Hermes element from the housefly. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 3743-3747.
 25. Kuwayama, H., Yaginuma, T., Yamashita, O. and Niimi, T. 2006. Germ-line transformation and RNAi of the ladybird beetle, *Harmonia axyridis*. *Insect Mol Biol* **15**, 507-512.
 26. Lee, K. S., Kwon, O. Y., Lee, J. H., Kwon, K., Min, K. J., Jung, S. A., Kim, A. K., You, K. H., Tatar, M. and Yu, K. 2008. *Drosophila* short neuropeptide F signalling regulates growth by ERK-mediated insulin signalling. *Nat Cell Biol* **10**, 468-475.
 27. Loukeris, T. G., Arcà, B., Livadaras, I., Dialektaki, G. and Savakis, C. 1995. Introduction of the transposable element Minos into the germ line of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA* **92**, 9485-9489.
 28. Loukeris, T. G., Livadaras, I., Arcà, B., Zabalou, S. and Savakis, C. 1995. Gene transfer into the medfly, *Ceratitis capitata*, with a *Drosophila hydei* transposable element. *Science* **270**, 2002-2005.
 29. Michel, T., Reichhart, J.M., Hoffmann, J. A. and Royet, J. 2001. *Drosophila* Toll is activated by Gram-positive bacteria through a circulating peptidoglycan recognition protein. *Nature* **414**, 756-759.
 30. Miratul, M., Muqit, K. and Feany, M. B. 2002. Modelling neurodegenerative diseases in *Drosophila*: a fruitful approach? *Nat Rev Neurosci* **3**, 237-243.
 31. Nolan, T., Papathanos, P., Windbichler, N., Magnusson, K., Benton, J., Catteruccia, F. and Crisanti, A. 2011. Developing transgenic *Anopheles* mosquitoes for the sterile insect technique. *Genetica* **139**, 33-39.
 32. O'Brochta, D. A. 2005. Genetic manipulation of insects. *Insect Biochem Mol Biol* **3**, 5647-648.
 33. O'Brochta, D. A., Atkinson, P. W. and Lehane, M. J. 2000. Transformation of *Stomoxys calcitrans* with a Hermes gene vector. *Insect Mol Biol* **9**, 531-538.
 34. Oliveira, S. G., Bao, W., Martins, C. and Jurka, J. 2012. Horizontal transfers of Mariner transposons between mammals and insects. *Mob DNA* **3**, 14.
 35. Pinkerton, A. C., Michel, K., O'Brochta, D.A. and Atkinson, P. W. 2000. Green fluorescent protein as a genetic marker in transgenic *Aedes aegypti*. *Insect Mol Biol* **9**, 1-10.
 36. Rong, Y. S. and Golic, K. G. 2000. Gene targeting by homologous recombination in *Drosophila*. *Science* **288**, 2013-2018.
 37. Roseman, R. R., Swan, J. M. and Geyer, P. K. 1995. A *Drosophila* insulator protein facilitates dosage compensation of the X chromosome min-white gene located at autosomal insertion sites. *Development* **121**, 3573-3582.
 38. Rubin, G. M. and Spradling, A. C. 2006. Gene drive systems for insect disease vectors. *Nat Rev Genet* **7**, 427-435.
 39. Sajwan, S., Takasu, Y., Tamura, T., Uchino, K., Sezutsu, H. and Zurovec, M. 2013. Efficient disruption of endogenous *Bombyx* gene by TAL effector nucleases. *Insect Biochem Mol Biol* **43**, 17-23.
 40. Spradling, A. C. and Rubin, G. M. 1981. *Drosophila* genome organization: conserved and dynamic aspects. *Annu Rev Genet* **15**, 219-264.
 41. Steven, P. S. and Fred, G. 1982. Gene drive systems for insect disease vectors. Genetic transformation of *Drosophila* with transposable element vectors. *Science* **218**, 348-353.
 42. Sumitani, M., Yamamoto, D. S., Oishi, K., Lee, J. M. and Hatakeyama, M. 2003. Germline transformation of the sawfly, *Athalia rosae* (Hymenoptera: Symphyta), mediated by a piggyBac-derived vector. *Insect Biochem Mol Biol* **33**, 449-458.
 43. Tamura, T., Thibert, C., Royer, C., Kanda, T., Abraham, E., Kamba, M., Komoto, N., Thomas, J. L., Mauchamp, B., Chavancy, G., Shirk, P., Fraser, M., Prudhomme, J. C. and Couble, P. 2000. Germline transformation of the silkworm *Bombyx mori* L. using a piggyBac transposon-derived vector. *Nat Biotechnol* **18**, 81-84.
 44. Thomas, D. D., Donnelly, C. A., Wood, R. J. and Alphey, L. S. 2000. Insect population control using a dominant, re-

- pressible, lethal genetic system. *Science* **287**, 2474-2476.
45. Venken, K. J., He, Y., Hoskins, R. A. and Bellen, H. J. 2006. P[acman]: a BAC transgenic platform for targeted insertion of large DNA fragments in *D. melanogaster*. *Science* **314**, 1747-1751.
 46. Warren, R. W., Nagy, L., Selegue, J., Gates, J. and Carroll, S. 1994. Evolution of homeotic gene regulation and function in flies and butterflies. *Nature* **372**, 458-461.
 47. Ward, T. W., Jenkins, M. S., Afanasiev, B. N., Edwards, M., Duda, B. A., Suchman, E., Jacobs-Lorena, M., Beaty, B. J. and Carlson, J. O. 2001. *Aedes aegypti* transducing dengue virus pathogenesis and expression in *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* larvae. *Insect Mol Biol* **10**, 397-405.
 48. Wimmer, E. A. 2003. Innovations: applications of insect transgenesis. *Nat Rev Genet* **4**, 225-232.
 49. Woltjen, K., Michael, I. P., Mohseni, P., Desai, R., Mileikovsky, M., Härmäläinen, R., Cowling, R., Wang, W., Liu, P., Gertsenstein, M., Kaji, K., Sung, H. K. and Nagy, A. 2009. piggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Nature* **458**, 766-770.
 50. Xiong, Y., Burke, W. D., Jakubczak, J. L. and Eickbush, T. H. 1988. Ribosomal DNA insertion elements R1Bm and R2Bm can transpose in a sequence specific manner to locations outside the 28S genes. *Nucleic Acids Res* **16**, 10561-10573.
 51. Yoshida, S., Shimada, Y., Kondoh, D., Kouzuma, Y., Ghosh, A. K., Jacobs-Lorena, M. and Sinden, R. E. 2007. Hemolytic C-type lectin CEL-III from sea cucumber expressed in transgenic mosquitoes impairs malaria parasite development. *PLoS Pathog* **3**, e192.

초록 : 해충관리에서 유전공학의 잠재적 역할

권기상¹ · 김복조¹ · 유 권² · 권오유^{3*}

(¹경운대학교 임상병리학과, ²한국생명공학연구원, ³충남대학교 의학전문대학원)

유전공학은 대장균의 유전자조작으로부터 시작되어 지금은 생명과학전반에서 급속하게 발전하고 있다. 최근의 유전자조작기술은 특정유전자를 염색체 내에 넣고 빼고 하는 기술이 확립되어서 의학과 농학을 포함한 응용 생명과학분야에서 유용하게 이용되고 있다. 본 리뷰에서는 높은 친환경성과 경제성을 가진 '지배적 치사곤충방사법'(Release of insects Carrying a Dominant Lethal: RIDL)을 중심으로 포괄적인 분자해충관리에 관하여 설명한다. 비록 현재로서는 RIDL을 직접 포장에 적용하기에는 아직 어려운 점이 많지만, 계속적인 유전공학기술의 발전을 통하여 농약을 사용하지 않고 생태계를 교란하지 않는 범위에서 사용될 수 있는 가장 좋은 해충관리방법 중의 한 가지가 될 것이다. 이때에 가장 고려할 점은 주위 환경교란부분에 많은 주의가 요구된다.