

형광단백질 발현 유전자변형 누에(*Bombyx mori*)의 환경위해성 평가연구

김현정 · 정철의¹ · 구태원² · 이훈복*

서울여자대학교 대학원 생물학과, ¹안동대학교 대학원, 생명자원과학과, ²농촌진흥청 국립농업과학원

The Study of Environmental Risk Assessment for Fluorescent Genetically Modified Silkworms

Hyunjung Kim, Chuleui Jung¹, Taewon Goo² and Hoonbok Yi*

Department of Biology, Graduate School of Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea

¹Department of Bioresource Sciences, Graduate school, Andong National University, Andong 760-749, Korea

²National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-100, Korea

ABSTRACT: It is true that the proper environmental risk assessments for many GM (Genetically Modified) insects almost have not been executed in Korea. Therefore, we tested the environmental risk assessment about GM silkworms if there is any difference between GM silkworms and non-GM silkworms by the following three measurements. First, we measured their mobility in the breeding environment conditions with food and without food. Secondly, we measured their viability at the artificial extreme environmental conditions (low and high temperature and humidity, absent/present of foods,) after escaping from their breeding environments. Thirdly, we observed the number of laying eggs and their hatchability between GM silkworms and non-GM silkworms with four different pair experiments. The mobility of GM silkworms and non-GM silkworms statistically did not differ, and the egg productivity and hatchability were not also different. The hatchability by couple of GM female silkworms and non-GM male silkworms was lower than by non-GM male and female couple between the GM silkworms and non-GM silkworms, and there was statistically different. Relatively, the viability of GM silkworms was lower than non-GM silkworms. We could not exactly test for viability of silkworms in low temperature conditions because of their hibernating. Although there was any difference in viability and hatchability between GM silkworms and non-GM silkworms, all ability of GM silkworms was lower than non-GM silkworms. Conclusively, the environmental risk of GM silkworm was relatively lower than non-GM silkworm in this study.

Key words: Environmental risk assessments, GM silkworms, Temperature, Viability, Hatchability

조 록: 곤충(초파리, 모기, 누에)은 해충방제, 유용물질생산, 의학연구 등을 위해 유전자변형 곤충으로 개발되어 왔지만, 아직까지 국내에서 유전자변형 곤충에 대한 환경위해성 평가 등이 거의 실시 되지 못하고 있다. 따라서, 본 연구에서 유전자변형 누에의 환경위해성 평가를 3가지 항목(이동성, 생존능력, 산란 및 부화율)으로 진행하였다. 첫째, 기본 사육 절차에서의 탈출가능성(이동성), 둘째, 사육환경으로부터 탈출시 생존 가능성(8개의 극한 환경조건: 고온, 저온, 건조, 습함, 먹이의 유무), 셋째, 비유전자변형 누에♀ x 비유전자변형 누에♂, 비유전자변형 누에♀ x 유전자변형 누에♂, 유전자변형 누에♀ x 비유전자변형 누에♂, 유전자변형 누에♀ x 유전자변형 누에♂으로부터 나온 산란 및 부화율을 비교 하였다. 유전자변형 누에와 비유전자변형 누에의 이동성은 통계적으로 차이가 없었으며, 산란 및 부화율 또한 통계적 차이가 없었다. 다만, 비유전자변형 암수쌍에서 산란된 알의 부화율보다 유전자변형 누에♀ 와 비유전자변형 누에♂에서 산란된 알의 부화율이 통계적으로 낮은 결과를 보였다. 극한환경에서의 생존을 실험에서 상대적으로 유전자변형 누에가 비유전자변형 누에보다 생존율이 낮았으며, 특히 고온조건의 환경에서 통계적으로 생존율이 낮은 결과를 보였다. 저온 조건의 경우 누에 유충의 동면으로 인해 실험결과를 명확하게 얻을 수 없었다. 유전자변형 누에와 비유전자변형 누에가 일부의 차이를 보였으나 모든 실험에서 유전자변형 누에의 값이 비유전자변형 누에보다 낮게 나타났으며, 결과적으로 이번 연구에서는 유전자변형 누에의 위해성은 비유전자변형 누에보다 적었다.

검색어: 환경위해성평가, 유전자변형 누에, 온도, 생존율, 부화율

*Corresponding author: yih@swu.ac.kr

Received March 19 2014; Revised April 14 2014

Accepted May 15 2014

곤충은 가장 큰 생물다양성을 토대로 매우 다양한 환경에 적응하였으며, 인간과 동물로의 질병 전파 및 농작물에 대한 섭식 작용 등을 통해 자연생태계 뿐만 아니라 인간의 사회경제적 활동에 영향을 미친다(Benedict, 2003; Deguine et al., 2008; Kongsin et al., 2010; Lee et al., 2010; Murtola et al., 2010; Pérez-Guerra et al., 2010). 하나의 예로, 유전자 변형 곤충을 이용한 신약 개발, 신소재 개발 등을 통한 고부가가치 사업은 인간의 경제적 활동에 큰 영향을 미치고 있다. 현재 국내·외에서 생명공학기술의 잠재적인 고부가가치 창출 가능성과 인체·환경에 대한 이익을 목적으로 유전자 변형 곤충을 포함한 유전자 변형생물체(GMO)의 개발이 가속화 되고 있다. 하지만, 유전자 변형기술을 바탕으로 이제까지 경험하지 못했던 새로운 생물체들이 자연환경에 비의도적으로 방출되어 자연생태계나 인체·동물 등에 부정적 영향을 미칠 수 있다는 우려와 보건·윤리 등의 안전성 측면에서의 우려가 제기되고 있는 실정이다(Muir and Howard, 1999; 2001; 2004; Mumford, 2012; Murray and Maga, 2010; Reeves et al., 2012).

곤충의 유전자 변형 연구는 의학분야 뿐만 아니라 해충을 제어하는 새로운 방법으로 떠오르며 연구가 활발히 진행되고 있는 추세이지만 유전자 변형 곤충에 대한 사용의 규제와 관리방안 등의 규제 지침은 아직까지 완전한 정립이 되지 않고 있는 실정이다(Lehane and Aksoy, 2012; Parks et al., 2004; Feany and Bender, 2000; Muqit and Feany, 2002, Ramesha et al., 2009; Rulifson et al., 2002; Thibault et al., 2004). 국내에서 곤충 뿐만 아니라 동물(무척추동물, 포유류, 기타 등)을 이용한 유전자 변형 연구들이 활발히 진행되어 왔고 이런 유전자 변형 동물에 대한 관리 기준 또한 일부 마련되어 시행되고 있지만, 식물 또는 척추동물에 적용되고 있는 연구시설들의 설치·운영기준이 상대적으로 생물생리적 특성이 상이한 곤충에 그대로 적용하기에는 무리가 있다. 결과적으로 유전자 변형 곤충에 대한 적절한 안전관리 체계의 확보와 상업화를 위한 제도 정착 및 가이드라인을 마련하기 위해서는 기존의 법을 응용 또는 변경 적용해야 할 필요성이 아주 크다(한국생명공학연구원, 2013). 현재까지 국내 연구자들이 진행하고 있는 유전자 변형 동·식물을 이용한 연구의 안전등급은 대부분 1-2등급 수준에 해당하며 3등급 이상의 유전자 변형 동물 연구는 진행되지 않고 있다(Goo et al., 2001; Lee et al., 2007; Kim et al., 2012). 시험·연구용 유전자 변형 동물(GM animals)에 대한 정확한 안전관리 체계와 위해성 평가 기법을 마련하기 위해서는 기존의 평가기법을 검증하고, 유전자 변형동물에 대한 위해성 평가 실험을 진행하여 기초 데이터를 구축할 필요성이 있다. 이번 실험에 사용한 유전자 변형 누에는 녹색 형광실크를 생산하는 실용품종으로 향후 5

년 이내에 농가보급을 목표로 하고 있다. 본 연구의 목적은 유전자 변형 누에가 자연상태에 인위적 또는 비의도적으로 방출되었을 경우 생태계에 미치는 영향을 파악하고 유전자 변형 곤충의 위해성 평가 기법 연구에 필요한 기초 실험 데이터를 구축하는 것이며, 이를 위해 『유전자 변형 생물체 국가간 이동 등에 관한 법률(LMO 고시 별표 10-1)』에 근거하여, “8.2 숙주 또는 숙주가 속하는 생물 종과의 차이점” 항목의 소항목인 “8.2.1 자연환경 또는 자연환경을 반영하는 시험 조건하에 생존 및 생식, 번식 능력”과 “8.2.5 생식양식 및 다른 품종 또는 근연종과의 생식 호환성”을 기준으로 유전자 변형 누에와 비유전자 변형 누에의 동등성(이동성, 생존능력, 산란수, 부화율)을 비교하여 환경에 미칠 위해성을 검증하고자 하였다.

재료 및 방법

누에 사육

실험에 사용된 유전자 변형 누에(*Bombyx mori*)는 눈과 신경 시스템에서 적색형광단백질을 발현하면서 녹색 형광실크를 생산하는 실용품종인 백옥잠(잠123 × 잠124) 유전자 변형 누에(Kim et al., 2012)를 사용하였으며(농촌진흥청, 잠사양봉소재 과 개발), 비유전자 변형 누에의 경우 형질전환에 사용된 백옥잠 누에품종을 대조군으로 사용하였다. 유전자 변형 누에의 암수 3쌍(GM 1, GM 2, GM 3)과, 비유전자 변형 누에 암수 3쌍(Non-GM 1, Non-GM 2, Non-GM 3)이 산란한 알을 부화시킨 개체 중 임의의 선별법을 사용하여 누에들을 선별하여 사용하였으며, 실험에 사용된 모든 누에는 농촌진흥청 농업생물부의 표준 사육 기준(온도, 24-27°C; 상대습도, 60-90%)에 준하여 농촌진흥청 농업생물부의 잠사 사육실에서 사육되었다(Fig. 1).

환경위해성 평가

이동성 비교

유전자 변형 누에 유충과 비유전자 변형 누에 유충을 난수표를 이용해 임의적으로 각 20개체씩 선택한 후, 누에의 먹이 식물인 뽕잎을 넣지 않은 사각플레이트(먹이가 없는 조건; 20 cm × 20 cm)와 뽕잎을 넣은 사각플레이트(먹이가 있는 조건)를 이용해 실험을 진행하였다. 먹이가 없는 조건은 사각플레이트의 중앙으로부터 5분간 이동한 거리를 측정(Fig. 2-a)하였으며, 먹이가 있는 조건은 사각플레이트의 중앙에서 일정한 반지름(8 cm) 둘레에 있는 먹이까지 도달하는 시간을 측정(Fig. 2-b)하였다.

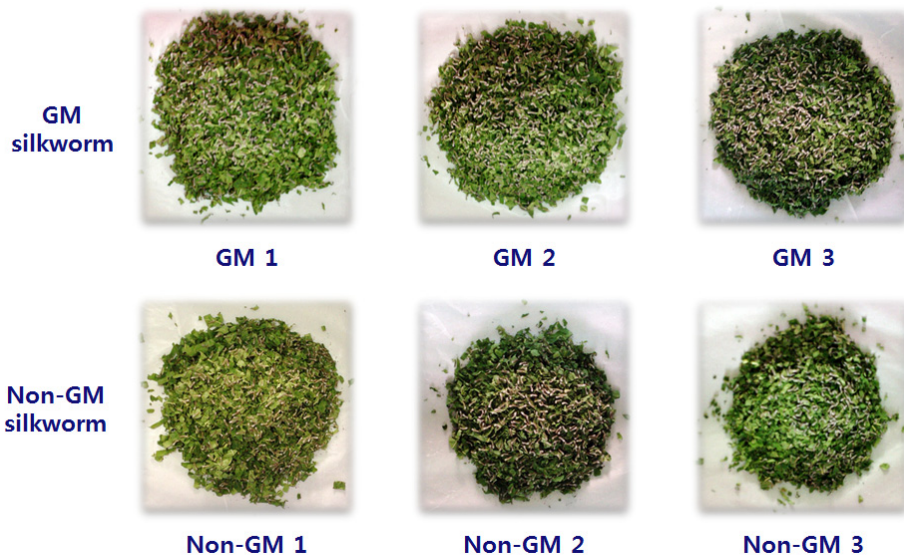


Fig. 1. Photos of GM silkworms (GM 1-3) and non-GM silkworms (Non-GM 1-3). GM 1-3 and Non-GM 1-3 was born from different parents.

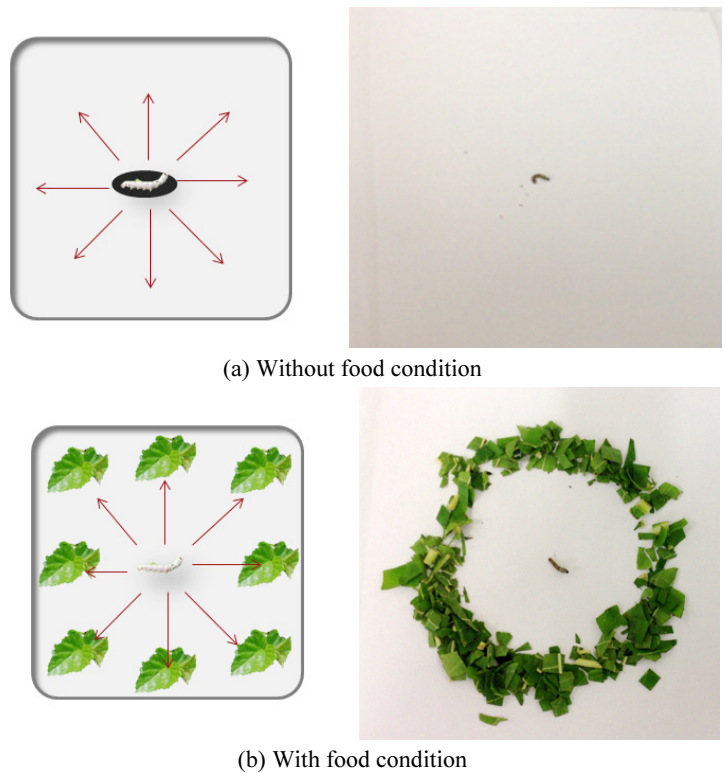


Fig. 2. Movement ability measurement at food conditions. (a) Without food condition, we measured the movement distance within 5 minutes. (b) With food condition, we measured the time to reach at food point.

실험은 누에의 령별로 1령, 2령, 3령, 4령의 실험을 각각 진행하였다. 측정된 결과값은 평균값과 분산값을 고려하여 비모수적 일원분산분석(Kruskal-Wallis Test)을 사용하여 통계적 차이를 분석하였다(SAS 9.3 user's Guide, 2011).

환경조건에 따른 생존율 비교

온도(H: 고온 38°C, L: 저온 4-8°C)와 습도(D: 건조 30%이하, W: 다습 90% 이상), 먹이조건(먹이 제공함, 먹이 제공 안함)

Table 1. Characteristics of treatments. We made Korean artificial extreme environmental conditions by using temperature, humidity and food. H: high temperature (more than 38 °C), L: low temperature (less than 4-6 °C), W: wet humidity (more than 90%), D: dry humidity (less than 30%), O: with food, X: without food. (Legend: HWO, high temperature, high humidity, with food)

Treatments	HWO	HWX	HDO	HDX	LWO	LWX	LDO	LDX
Temperature	High > 38 °C	High > 38 °C	High > 38 °C	High > 38 °C	Low < 4-6 °C	Low < 4-6 °C	Low < 4-6 °C	Low < 4-6 °C
Humidity	> 90%	> 90%	< 30%	< 30%	> 90%	> 90%	< 30%	< 30%
Food	With	Without	With	Without	With	Without	With	Without

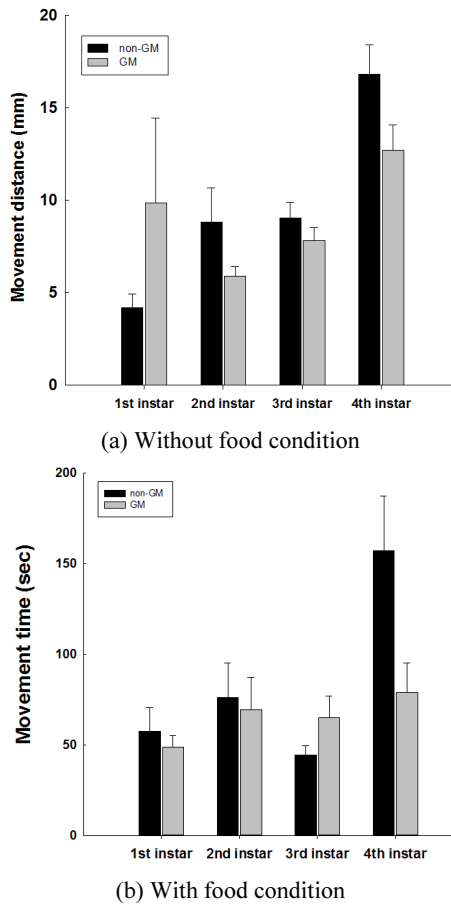


Fig. 3. Result of Movement ability at food conditions. Black bars = Non-GM silkworm, grey bars = GM silkworm, error bars indicate Standard Error of Means. We measured the movement distance within 5 minutes in without food condition (a), and movement time to reach at food point in with food condition (b). There were no significant differences between the conditions and groups.

X)을 이용하여 총 8개의 처리구를 구성하여 환경조건에 따른 유전자변형 누에 및 비유전자변형 누에의 생존율 비교 실험을 진행하였다(Table 1). 유전자변형 누에 유충과 비유전자변형 누에 유충에서 임의적으로 연구에 사용할 동일한 연령의 누에를 각 5개체씩 3반복수로 고른 후 처리구 별로 분배한 후 1일 간격으로 같은 시간에 처리구를 모두 꺼내어 생존유무를 확인하

고 기록하였으며, X령의 유충이 X+1령의 유충이 될 때까지 생존을 실험을 진행하였다. 이후 생존율 결과값을 이용해 유전자변형 누에와 비유전자변형 누에의 통계적 차이와, 누에의 연령별 생존율의 차이, 환경조건에 따른 생존율의 차이를 분산분석법 (Analysis of Variance, ANOVA)을 이용하여 통계분석 하였다.

산란수 및 부화율 비교

유전자변형 누에 암(♀) x 수(♂), 비유전자변형 누에 암(♀) x 수(♂)를 이용해 짝짓기가 가능한 쌍을 농촌진흥청 농업생물부의 표준 사육 기준(온도, 24-27°C; 상대습도, 60-90%)에 준한 사육실에서 각 세 쌍씩 교배시켜 각 쌍의 암누에 산란수를 비교하였으며, 산란된 알은 포르말린 용액을 이용한 침산법을 사용하여 알을 부화시킨 후 부화한 알의 수를 확인하여 부화율을 구하였다. 이후 ANOVA 분산분석을 이용하여 유전자변형 누에와 비유전자변형 누에의 산란수 및 부화율에 대한 통계적 차이를 분석하였다.

통계분석

본 연구에서 진행된 4가지 실험은 유전자변형 누에와 비유전자변형 누에의 결과가 통계적으로 유의성이 없다는 것을 기본 통계 가설로 설정하였다. 각각의 실험항목별로 SAS 9.3을 이용하여 유전자변형 누에와 비유전자변형 누에 간의 이동성 차이 유무, 환경조건 별 생존율 비교, 산란수 및 부화율 비교를 하였으며, 이를 위해 분산분석법(Analysis of Variance, ANOVA)과 비모수적 일원분산분석(Kruskal-Wallis Test)을 사용하였다(SAS 9.3 user's Guide, 2011).

결과

누에 유충의 이동성 평가

먹이가 없는 조건에서 5분간 이동한 거리를 측정된 결과, 1

령의 비유전자변형 누에($4.20 \pm 0.72SE$ mm)와 유전자변형 누에($9.85 \pm 4.60SE$ mm)가 큰 차이를 나타냈으나, 각 개체 간 이동 거리 값의 오차범위가 크게 차이가 났고 통계적 차이는 보이지 않았다(Fig. 3, $\chi^2 = 1.6153$, $DF = 1$, $p = 0.2037$). 2령의 경우 비유전자변형 누에의 이동거리가 유전자변형 누에의 이동거리보다 3 mm 정도 적었으나 이 또한 통계 분석 결과 통계적 차이는 보이지 않았다(Fig. 3, $\chi^2 = 2.2100$, $DF = 1$, $p = 0.1371$). 마찬가지로 3령($\chi^2 = 1.0970$, $DF = 1$, $p = 0.2949$)과 4령($\chi^2 = 3.5453$, $DF = 1$, $p = 0.0597$) 모두 통계적 차이를 보이지 않았다.

먹이가 있는 조건에서의 이동성은 비유전자변형 누에 1령이 먹이까지 도달하는 시간이 $57.20 \pm 13.23SE$ 초, 유전자변형 누에 1령이 $48.80 \pm 6.11SE$ 초로 약 10초 정도 차이가 났으나, 각

개체 간 오차범위가 크게 나타났고, 통계적 분석 결과 차이가 나타나지 않았다($\chi^2 = 0.0077$, $DF = 1$, $p = 0.9302$) 2령($\chi^2 = 1.2260$, $DF = 1$, $p = 0.2682$)과 3령($\chi^2 = 1.7229$, $DF = 1$, $p = 0.1893$)의 실험에서도 도달 시간의 차이는 있었지만, 통계적 차이는 나타나지 않았다. 그러나 4령의 경우 유전자변형 누에($78.65 \pm 16.36SE$ 초)의 이동성이 비유전자변형 누에($156.92 \pm 30.32SE$ 초)의 이동성 보다 빠르게 나타났다($\chi^2 = 5.5119$, $DF = 1$, $p = 0.0189$).

환경조건에 따른 생존을 비교

생존을 연구 결과 같은 환경의 조건에서 유전자변형 누에와 비유전자변형 누에 모두 유충의 연령수가 커질수록 각 환경에

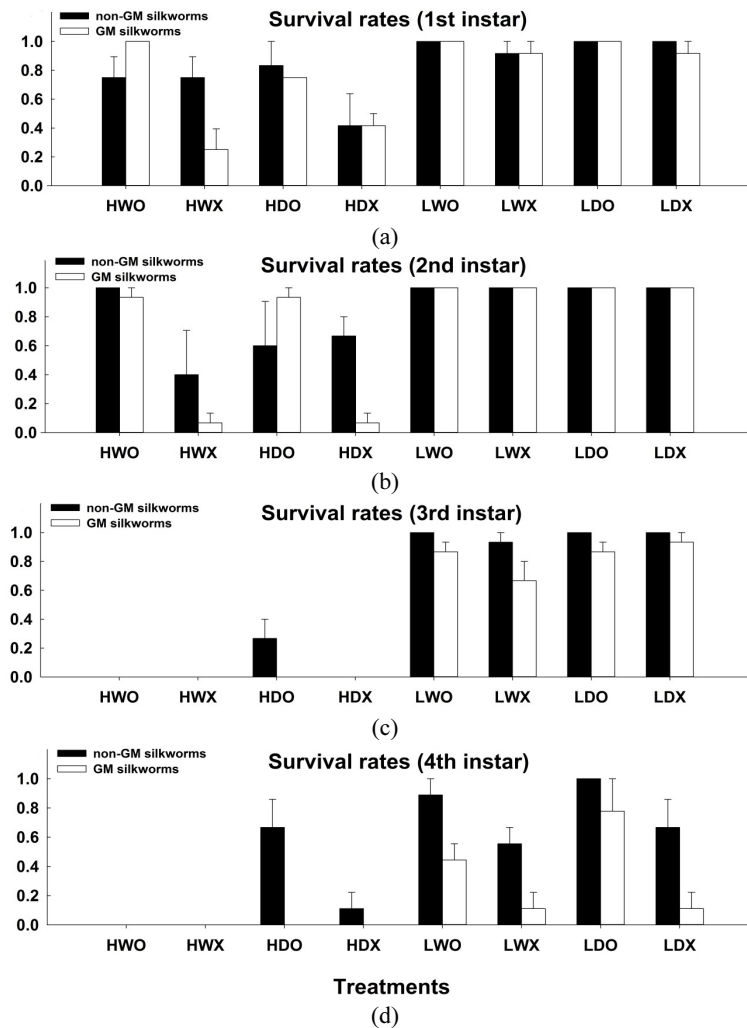


Fig. 4. The graphs show survival rates at each treatment and larva stages. N: non-GM silkworm, M: GM silkworm. H: high temperature (more than $38^{\circ}C$), L: low temperature (less than $4-6^{\circ}C$), W: wet humidity (more than 90%), D: dry humidity (less than 30%), O: with food, X: without food. (Legend: HWO, high temperature, high humidity, with food).

Table 2. The analysis of variance on the survival rates between high temperature and low temperature with each environmental condition. (N): non-GM silkworm, (M): GM silkworm. H: high temperature (more than 38 °C), L: low temperature (less than 4-6 °C), W: wet humidity (more than 90%), D: dry humidity (less than 30%), O: with food, X: without food. (Legend: HWO, high temperature, high humidity, with food).

ANOVA (P-value)	LWO (N)	LWO (M)	LWX (N)	LWX (M)	LDO (N)	LDO (M)	LDX (N)	LDX (M)
HWO (N)	*	-	-	-	*	*	*	-
HWO (M)	*	*	*	-	*	*	*	*
HWX (N)	*	*	*	-	*	*	*	*
HWX (M)	**	**	**	*	**	**	**	*
HDO (N)	*	-	-	-	*	*	*	-
HDO (M)	*	*	*	-	*	*	*	-
HDX (N)	**	*	*	-	**	*	*	*
HDX (M)	**	**	**	*	**	**	**	*

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

Table 3. The results of survival rate at environmental treatments during each larva stage periods. Table data are mean (SE). N: non-GM silkworm, M: GM silkworm. H: high temperature (more than 38 °C), L: low temperature (less than 4-6 °C), W: wet humidity (more than 90%), D: dry humidity (less than 30%), O: with food, X: without food. (Legend: HWO, high temperature, high humidity, with food).

Larva stages		HWO	HWX	HDO	HDX	LWO	LWX	LDO	LDX
1 st instar (four days)	M	1.00 (0.00)	0.25 (0.14)	0.75 (0.00)	0.42 (0.08)	1.00 (0.00)	0.92 (0.08)	1.00 (0.00)	0.92 (0.08)
	N	0.75 (0.14)	0.75 (0.14)	0.83 (0.17)	0.42 (0.22)	1.00 (0.00)	0.92 (0.08)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)
2 nd instar (two days)	M	0.93 (0.07)	0.07 (0.07)	0.93 (0.07)	0.07 (0.07)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)
	N	1.00 (0.00)	0.40 (0.31)	0.60 (0.31)	0.67 (0.13)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)
3 rd instar (four days)	M	-	-	-	0.00 (0.00)	0.87 (0.07)	0.67 (0.13)	0.87 (0.07)	0.93 (0.07)
	N	-	-	0.27 (0.13)	0.00 (0.00)	1.00 (0.00)	0.93 (0.07)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)
4 th instar (four days)	M	-	-	-	-	0.44 (0.11)	0.11 (0.11)	0.78 (0.22)	0.11 (0.11)
	N	-	-	0.67 (0.19)	0.11 (0.11)	0.89 (0.11)	0.56 (0.11)	-	0.67 (0.19)
ANOVA	M	**	ns	**	**	**	**	ns	**
P-value	N	**	*	ns	*	ns	*	ns	ns

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

ns: not significant.

서의 생존율이 감소하는 경향을 보였으며, 비유전자변형 누에와 유전자변형 누에 모두 고온보다 저온에서의 생존율이 높게 나타났다(Fig. 4, Table 2). 먹이조건에 따른 생존율의 차이는 먹이가 있는 처리구의 생존율이 먹이가 없는 처리구의 생존율보다 높게 나타났으며, 습도 조건에 따른 생존율은 높은 습도 조건이 낮은 습도 조건보다 생존율이 높아보였으나, 통계적으로 차이가 나타나지 않았다(Table 3). 상대적으로 유전자변형 누에의 생존율이 각각의 환경 조건에서 비유전자변형 누에보다 낮은 수치를 나타내었고, 특히 고온 조건에서 유전자변형 누에가 비유전자변형 누에보다 생존율이 낮게 나타났다(Table 3). 유전자변형 누에와 비유전자변형 누에의 환경조건별 생존율은 통계적으로 차이가 나타나지 않았다(ANOVA, HWO:

p-value = 0.8220, HWX: p-value = 0.1159, HDO: p-value = 0.3244, HDX: : p-value = 0.395, LWO: p-value = 0.0773, LWX: p-value = 0.1705, LDO: p-value = 0.1384, LDX: p-value = 0.1849). 비유전자변형 누에의 연령별로 생존율을 ANOVA 분석을 통해 비교한 결과, HWO, HWX, HDX, LWX의 환경 조건에서 통계적 차이가 나타났으며, 유전자변형 누에의 연령별 생존율은 HWX와 LDO 환경 조건을 제외한 나머지 환경조건에서 통계적 차이가 나타났(Table 3, Fig. 4).

산란수 및 부화율 비교

유전자변형 누에와 비유전자변형 누에의 산란수 비교 결과,

각 교배쌍의 평균 산란수는 크게 차이가 나타났으나, 통계적으로는 차이가 나타나지 않았다(Fig. 5). 부화율 비교 결과, 비유전자변형 누에 쌍(♀ × ♂)이 산란한 알의 부화율과 유전자변형 누에 쌍(♀ × ♂)이 산란한 알의 부화율은 통계적으로 차이가 없었으나, 비유전자변형 누에 쌍(♀ × ♂)에서의 부화율과 유전자변형 누에(♀)와 비유전자변형 누에(♂)와의 교배로 산란된 알의 부화율은 통계적으로 차이를 나타냈다(Fig. 6.

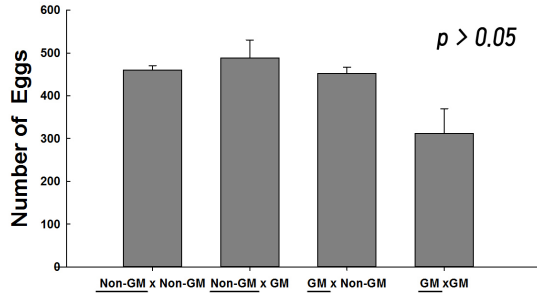


Fig. 5. Result of the average egg production in each matching groups. Bar is mean, error bars indicate standard error of means. Underline (_): Female silkworm, No underline (): male silkworm. There were no significant differences between the groups.

P=0.0277).

고찰

연구 대상인 누에의 경우, 먹이를 섭취하기 위한 이동 외에

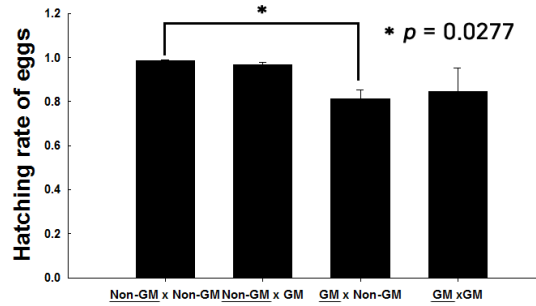


Fig. 6. Result of the average egg hatching rate in each matching groups. Bar is mean, error bars indicate standard error of means. Underline (_): Female silkworm, No underline (): male silkworm. There were significant differences between Non-GM female × Non-GM male group and GM female × Non-GM male group (p=0.0277).

Table 4. The analysis of variance on the survival rates within high and low temperature environmental conditions. (N): non-GM silkworm, (M): GM silkworm. H: high temperature (more than 38 °C), L: low temperature (less than 4-6 °C), W: wet humidity (more than 90%), D: dry humidity (less than 30%), O: with food, X: without food. (Legend: HWO, high temperature, high humidity, with food). Photo (a) is 3 instar silkworm that grow in HWO treatment, photo (b) is 3rd instar silkworm that grow in LWO treatment.

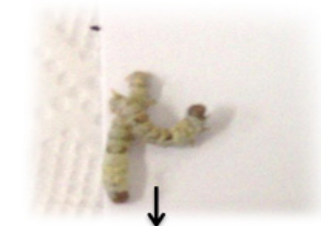
ANOVA (P-value)	HWO(N)	HWO(M)	HWX(N)	HWX(M)	HDO(N)	HDO(M)	HD X(N)	HDX(M)
HWO(N)	=	*	-	*	-	-	-	*
HWO(M)		=	-	-	-	-	-	-
HWX(N)			=	*	-	-	-	-
HWX(M)				=	*	-	-	-
HDO(N)					=	**	-	**
HDO(M)						=	*	-
HDX(N)							=	*
HDX(M)								=
	LWO(N)	LWO(M)	LWX(N)	LWX(M)	LDO(N)	LDO(M)	LDX(N)	LDX(M)
LWO(N)	=	-	-	*	-	-	-	-
LWO(M)		=	-	-	-	-	-	-
LWX(N)			=	-	-	-	-	-
LWX(M)				=	*	-	-	-
LDO(N)					=	-	-	-
LDO(M)						=	-	-
LDX(N)							=	-
LDX(M)								=

*p < 0.05(b)
**p < 0.01



High Temp. (38°C)

(a)



Low Temp. (2-6°C)

는 큰 이동성을 보이지 않는 특성을 나타내었으며, 먹이활동을 위한 경우라 할지라도 큰 이동성의 값을 나타내지 않았다.

우리나라의 여름철 최고 기온인 38도(기상청, 2011-2012)에서 유전자변형 누에의 생존 가능성은 거의 희박하며, 습도가 높은 환경에서의 생존율 또한 낮게 나타났다. 이 결과는 Kumar et al.(2002)의 연구와 유사한 결과로써 DNA, RNA, 지질 등과 같은 생물학적 분자가 온도 스트레스에 의해 단백질 합성 중단, 구조 변형 등과 같은 세포 수준에서의 이상이 발생해 생존율에 영향을 미친 것으로 설명하였다. 겨울월동시기의 온도인 2-4도와 유사한 저온조건의 환경에서 누에유충의 생존가능성에 대한 결과가 불확실하였다. 일반적으로 자연상태의 누에는 1년 1세대이므로 낮은 온도인 겨울철 월동한 알이 먹이인 뽕잎이 싹트는 시기인 봄철에 맞추어 알에서 부화한다. 이번 연구결과, 고온조건에서 누에 개체가 무르면서 죽었으나, 저온조건의 누에 개체는 동면상태(월동상태)로 넘어갔으며, 그 상태로 실험기간 동안 생존해 있는 것이 확인 되었다. 형질전환 누에의 안전관리 및 위해성 평가를 위한 기준을 제시하기 위해서는 좀 더 세분화된 저온조건에서의 실험을 할 필요성이 있을 것으로 생각된다. Table 4은 같은 부모의 알에서 부화된 누에가 저온조건과 고온조건에서의 성장 차이를 보여주고 있다. 고온조건에서의 누에(a)는 일반 환경과 비슷하게 성장을 하고, 저온조건에서의 누에(b)는 성장이 멈춰진 상태에서 동면을 하는 것을 알 수 있었다.

산란율과 부화율의 경우 유전자변형 누에가 특별히 많은 수의 알을 산란하거나, 부화율이 높게 나타나지는 않았다. 오히려 비유전자변형 누에의 산란율보다 적고, 부화율 또한 낮게 나타났다.

본 연구의 목적은 유전자변형곤충이 자연상태에 인위적 또는 비의도적으로 방출되었을 경우 생태계에 미치는 영향을 파악하기 위해 진행되었다. 본 연구의 결과를 토대로 유전자변형 누에가 환경에 방출되었을 경우, 자연생태계에 미치는 영향이 적음을 알 수 있었다. 국외의 경우 유전자변형 모기와 나방 같은 곤충류와 어류에 대해 제한된 공간에서의 환경 방출 실험이 진행되어 왔다. Facchimelli et al.(2013)은 유전자 변형 모기를 이용해 제한된 야외 실험을 진행하였고, 이러한 실험이 유전자 변형 모기를 포함한 곤충류의 단계별 평가에 꼭 필요한 통찰력을 제공해 줄 수 있다고 언급하였다. 아직까지 국내의 유전자 변형곤충에 대한 실험은 앞서 언급한 바와 같이 안전등급이 승인된 실험실 내에서만 가능하다. 본 연구결과가 유전자변형곤충의 안전관리 및 위해성 평가를 위한 기준 마련에 밑바탕이 되어 더 많은 연구가 진행된다면, 앞으로 유전자변형 곤충의 산업화에 큰 힘이 될 것으로 기대한다.

사 사

본 연구는 2012학년도 서울여자대학교자연과학연구소 교내학술연구비의 지원으로 연구가 수행되었으며, 교과부지원, 바이오안전성평가관리사업 “시험·연구용 유전자변형 곤충 안전관리등급 및 관리방안 재평가”과제의 일부로 진행되었습니다.

Literature Cited

- Benedict, J.H., 2003. Strategies for controlling insect, mite and nematodes pests. In: Plants, Genes, and Crop Biotechnology. M.J. Chrispeels and D.E. Sadava (eds.). Jones and Bartlett Publishers, Sudbury (MA), USA. pp. 414-442.
- Deguine, J.P., Ferron, P., Russell, D., 2008. Sustainable pest management for cotton: A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 28, 113-137.
- Facchinelli, L., Valerio, L., Ramsey, J.M., Gould, F., Walsh, R.K., Bond, G., Robert, M.A., Lloyd, A.L., James, A.A., Alphey, L., Scott, T.W., 2013. Field cage studies and progressive evaluation of genetically-engineered mosquitoes PLOS Neglected Tropical Diseases. 7, e2001.
- Feany, M.B., Bender, W.W., 2000. A Drosophila model of Parkinson's disease. *Nature* 404, 394-398.
- Goo, T.W., Yun, E.Y., Hwang, J.S., Kang, S.W., Kwon, O., 2001. Molecular characterization of a *Bombyx mori* protein disulfide isomerase (bPDI). *Korean journal of Life Science*. 11, 415-422.
- Kim, S.W., Yun, E.Y., Choi, K.H., Kim, S.R., Park, S.W., Kang, S.W., Kwon, O., Goo, T.W., 2012. Construction of fluorescent red silk using fibroin H-chain expression system. *Journal of Sericultural and Entomological Science*. 50, 87-92.
- Kongsin, S., Jiamton, S., Suaya, J.A., Vasanawathana, S., Sirisuvan, P., Shepard, D., 2010. The cost of dengue in Thailand. *Dengue Bulletin*. 34, 77-88.
- Kumar, N.S., Basavaraja, H.K., Kumar, C.M.K., Reddy, N.M., Datta, R.K., 2002. On the breeding of “CSR18 x CSR19”- A robust bivoltine hybrid of silkworm, *Bombyx mori* L. for the tropics. *International Journal of Industrial Entomology*. 5, 155-162.
- Lee, H.L., Vasan, S., Birgelen, L., Murtola, T., Gong, H., Field, R., Mavalankar, D., Nazni, W.A., Lokman, S.H., Shahnaz, M., Ng, C.W., Lucy, L.C.S., Suaya, J.A., Shepard, D.S., 2010. Immediate cost of dengue to Malaysia and Thailand: An estimate. *Dengue Bulletin*. 34, 65-76.
- Lee, K.S., Kim, B.Y., Je, Y.H., Woo, S.D., Sohn, H.D., Jin, B.R., 2007. A new technique for producing recombinant baculovirus directly in silkworm larvae. *Biotechnology Letter*. 29, 175-180.
- Lehane, M.J., Serap, A., 2012. Control Using Genetically Modified Insects Poses Problems for Regulators. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 6, e1495.

- Muir, W.M., Howard, R.D., 1999. Possible ecological risks of transgenic organism release when transgenes affect mating success: Sexual selection and the Trojan gene hypothesis. *PNAS*. 96, no. 24.
- Muir, W.M., Howard, R.D., 2001. Fitness Components and Ecological Risk of Transgenic Release: A Model Using Japanese Medaka (*Oryzias latipes*). *The American Naturalist*. 158, 1-16.
- Muir, W.M., Howard, R.D., 2004. Characterization of environmental risk of genetically engineered (GE) organisms and their potential to control exotic invasive species. *Aquatic Sciences*. 66, 414 – 420.
- Mumford, J.D., 2012. Science, Regulation, and Precedent for Genetically Modified Insects. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 6, e1504.
- Muqit, M.M., Feany, M.B., 2002. Modelling neurodegenerative diseases in *Drosophila*: a fruitful approach? *Nature Reviews Neuroscience*. 3, 237–243.
- Murray, J.D., Maga, E.A., 2010. Is there a risk from not using GE animals? *Transgenic Research*. 19, 357– 361.
- Murtola, T., Vasan, S., Puwar, P., Govil, D., Field, R., Gong, H., Bhavsar-Vyas, A., Suaya, J., Howard, M., Shepard, S.D., Kohli, V., Prajapati, P., Singh, A., Mavalankar, D., 2010. Preliminary estimate of immediate cost of chikungunya and dengue to Gujarat, India. *Dengue Bulletin*. 34, 32-40.
- Parks, A.L., Cook, K.R., Belvin, M., Dompe, N.A., Fawcett, R., Huppert, K., Tan, L.R., Winter, C.G., Bogart, K.P. Deal, J.E., Deal-Herr, M.E., Grant, D., Marcinko, M., Miyazaki, W.Y., Robertson, S., Shaw, K.J., Tabios, M., Vysotskaia, V., Zhao, L., Andrade, R.S., Edgar, K.A., Howie, E., Killpack, K., Milash, B., Norton, A., Thao, D., Whittaker, K., Winner, M.A., Friedman, L., Margolis, J., Singer, M.A., Kopczynski, C., Curtis, D., Kaufman, T.C., Plowman, G.D., Duyk, G., Francis-Lang, H.L., 2004. Systematic generation of high-resolution deletion coverage of the *Drosophila melanogaster* genome. *Nature Genetics*. 36, 288–292.
- Perez-Guerra, C.L., Halasa, Y., Rivera, R., Pena, P., Ramirez, V., Cano, M., Shepard, D.S., 2010. Economic cost of dengue public prevention activities in Puerto Rico. *Dengue Bulletin*. 34, 13-24.
- Ramesha, C., Seshagiri, S.V., Rao, C.G.P., 2009. Evaluation and identification of superior polyvoltine crossbreeds of mulberry silkworm, *Bombyx mori* L. *Journal of Entomology* . 6, 188-197.
- Reeves, R.G., Denton, J.A., Santucci, F., Bryk, J., Reed, F.A., 2012. Scientific Standards and the Regulation of Genetically Modified Insects *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 6, e1502.
- Rulifson, E.J., Kim, S.K. Nusse, R., 2002. Ablation of insulin-producing neurons in flies: growth and diabetic phenotypes *Science*. 296, 1118–1120.
- SAS/STAT® 9.3 User's Guide, 2011, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA
- Thibault, S.T., Singer, M.A., Miyazaki, W.Y., Milash, B., Dompe, N.A., Singh, C.M., Buchholz, R., Demsky, M., Fawcett, R., Francis-Lang, H.L., Ryner, L., Cheung, L.M., Chong, A., Erickson, C., Fisher, W.W., Greer, K., Hartouni, S.R., Howie, E., Jakkula, L., Joo, D., Killpack, K., Laufer, A., Mazzotta, J., Smith, R.D., Stevens, L.M., Stuber, C., Tan, L.R., Ventura, R., Woo, A., Zakrajsek, I., Zhao, L., Chen, F., Swimmer, C., Kopczynski, C., Duyk, G., Winberg, M.L., Margolis, J., 2004. A complementary transposon tool kit for *Drosophila melanogaster* using *P* and *piggybac*. *Nature Genetics*. 36, 283-287.
- Korea Meteorological Administration(KMA). www.kma.go.kr
- Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (Korea Biosafety Cleaning House). 2013. Research on Development of Safety Management Standards for Genetically Modified Animals/ Insects; Focus on Silkworm and Pigs. Rural Development Administration.