

친환경 살충제로서의 곤충 유충호르몬 길항제

최재영¹ · 제연호^{1,2*}

¹서울대학교 농업생명과학연구원, ²서울대학교 농업생명과학대학 농생명공학부

Insect Juvenile Hormone Antagonists as Eco-friendly Insecticides

Jae Young Choi¹ and Yeon Ho Je^{1,2*}

¹Research Institute for Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Seoul 08826, Korea

²Department of Agricultural Biotechnology, College of Agriculture & Life Sciences, Seoul National University, Seoul 08826, Korea

ABSTRACT: Because of their specificity to target insects and relatively low toxicity to non-target organisms, insect growth regulators (IGRs) have been regarded as attractive alternatives to chemical insecticides. Commercially available IGRs are classified into juvenile hormone agonists (JHAs), ecdysone agonists (EAs), and chitin synthesis inhibitors (CSIs) according to their mode of action. Recently, JH-mediated interaction of *methoprene-tolerant* (*Met*), which is JH receptor, and its binding partners have been replicated *in vitro* using yeast cells transformed with the *Met* and *FIS/CYC* genes of *A. aegypti*. Using this *in vitro* yeast two-hybrid β -galactosidase assay, juvenile hormone antagonists (JHANs) have been identified from various sources including chemical libraries, plants, and microorganisms. As juvenile hormone (JH) is an insect specific hormone and regulates development, reproduction, diapause and other physiological processes, JHANs fatally disrupt the endocrine signals, which result in abnormal development and larval death. These results suggested that JHANs could be efficiently applied as IGR insecticides with a broad insecticidal spectrum. This review discusses JH signaling pathway mediated by *Met* and future prospects of JHANs as environmentally benign IGR insecticides.

Key words: Insect growth regulator, Juvenile hormone, Receptor complex, Juvenile hormone antagonist

초 록: 곤충생장조절제(IGR)은 대상 해충에 대한 특이성이 높고 환경에 대한 독성이 상대적으로 낮다는 장점으로 유기합성 살충제를 효과적으로 대체할 수 있는 유망한 수단으로 여겨진다. 현재 시판되는 곤충생장조절제는 작용 기작에 따라 유충호르몬 작용제(JHA), 탈피호르몬 작용제(EA) 및 키틴 합성 저해제(CSI)의 세 가지로 구분된다. 최근 들어, 이집트숲모기의 *Met*과 *FIS/CYC* 유전자를 yeast two-hybrid system에 도입하여 유충호르몬에 의해 매개되는 *Met*과 *FIS/CYC*의 결합을 *in vitro*에서 구현하였으며, yeast two-hybrid β -galactosidase assay를 통하여 식물과 미생물 및 화합물 library로부터 다양한 유충호르몬 길항제(JHAN)가 분리되고 있다. 유충호르몬은 곤충의 발달, 생식, 휴면 등을 포함한 다양한 생리 작용을 조절하기 때문에, 유충호르몬 길항제는 대상 해충의 내분비 신호 전달을 방해하여 비정상적인 발달 및 유충 단계에서의 치사를 초래하며, 이는 유충호르몬 길항제가 넓은 기주 범위를 가진 살충제 개발에 효과적으로 이용될 수 있다는 것을 시사하였다. 따라서 본 논문에서는 유충호르몬 길항제의 작용점인 *Met*에 의해 매개되는 유충호르몬의 신호 전달 체계와 친환경 살충제로서의 유충호르몬 길항제의 전망에 대해 알아보하고자 하였다.

검색어: 곤충생장조절제, 유충호르몬, 유충호르몬 수용체 복합체, 유충호르몬 길항제

해충은 농작물을 가해함으로써 작물의 생산량을 감소시켜 경제적인 피해를 입힐 뿐만 아니라, 말라리아나 황열병 같은 질병을 매개함으로써 인류의 건강에 큰 위협을 가하고 있다(Boyer et al., 2012; Hill et al., 2005). 이러한 해충을 방제하기 위하여

전통적으로 유기인계나 카바메이트계 및 피레트로이드계를 포함한 유기합성 살충제를 사용하여 왔는데, 이러한 유기합성 살충제는 환경오염이나 인축에 대한 독성 및 저항성 해충의 출현 등의 문제점으로 인해 그 사용량을 점점 줄어드는 추세에 있다(Nicolopoulou-Stamati et al., 2016). 이에 반해 곤충생장조절제(insect growth regulator, IGR)과 미생물 살충제를 포함한 친환경 살충제의 경우에는 최근 들어 사용량이 크게 증가하고 있다.

*Corresponding author: btrus@snu.ac.kr

Received December 28 2021; Revised January 18 2022

Accepted February 9 2022

곤충생장조절제는 곤충의 정상적인 성장, 발달 및 생식 등과 관련된 다양한 곤충 특이적인 생리생화학적 및 분자적 과정을 방해하는 물질로서, 표적 해충에 대해 선택적으로 작용하면서 비표적 생물에 대해서는 독성이 매우 낮기 때문에 기존의 유기 합성 살충제의 효과적인 대안으로 각광받고 있다(Pener and Dhadialla, 2012). 곤충생장조절제는 그 작용 기작에 따라 유충 호르몬 작용제(juvenile hormone agonist, JHA), 탈피호르몬 작용제(ecdysone agonist, EA) 및 키틴 합성 억제제(chitin synthesis inhibitor, CSI)의 세 가지로 구분된다. 유충호르몬 작용제와 탈피호르몬 작용제는 각각 곤충의 탈피 및 변태과정에 작용하여 정상적인 발달을 저해함으로써, 키틴 합성 억제제는 곤충의 외골격을 구성하는 주요 성분인 키틴의 합성을 저해함으로써 대량 해충을 치사에 이르게 한다(Hartfelder and Emlen, 2012). 그러나 기존의 곤충생장조절제에 저항성을 보이는 해충들이 출현함에 따라 새로운 곤충생장조절제 활성을 가지는 물질에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다(Dennehy et al., 2010; Silva and Mendes, 2007).

곤충 유충호르몬(juvenile hormone, JH)의 수용체(receptor)인 methoprene-tolerant (Met) 단백질은 JH의 증개 하에 Ftz-F1-interacting steroid receptor coactivator (FISC) 단백질과 수용체 복합체(receptor complex)를 형성하는데, 최근 들어 이집트 숲모기(*Aedes aegypti*)의 Met과 FISC 단백질 유전자를 형질전환한 효모를 이용하여 다양한 식물 추출물 및 미생물로부터 유충호르몬 길항제(juvenile hormone antagonist, JHAN)를 찾는 시도가 이루어지고 있다(Kim et al., 2020; Lee et al., 2018a, 2015; Woo et al., 2020). 이에 따라, 본 논문에서는 기존의 유충호르몬 작용제 및 이와는 다른 작용 기작을 가지는 유충호르몬 길항제에 대한 최근의 연구 동향과 친환경 살충제로서의 전망에 대해 알아보려고 한다.

곤충 유충호르몬(Juvenile hormone, JH)

곤충의 유충호르몬에 대한 연구는 이미 200여년 전부터 시작되었지만, 1936년에 어린 유충시기 *Rhodnius prolixus*의 알라타체(corpora allata)를 외과적인 기법을 이용하여 마지막 유충령기인 5령 유충에 이식하면 변태(metamorphosis)를 억제하고 6령 유충으로의 과탈피(supernumerary molt)를 유발하며, 그러한 변태를 방해하는 호르몬이 알라타체에서 생성된다는 것이 밝혀지면서 본격적으로 시작되었다(Wigglesworth, 1936). 또한, *Platysamia cecropia* 수컷 성충에서 유충호르몬의 활성을 보존한 상태로 추출하는 방법이 밝혀지면서 유충호르몬에 대한 연구가 가속화 되었다(Williams, 1956). 그 후, 야생 누에

인 *Hyalophora cecropia*의 지질 추출물에서 처음으로 유충호르몬을 분리하여 그 구조를 확인하였다(Roller, 1967). 화학식이 methyl(2E,6E,10-cis)-10,11-epoxy-7-ethyl-3,11-dimethyl-2,6-tridecadienoate인 이 유충호르몬은 cecropia JH 또는 C18 JH로 불렸으나 이후 JH I으로 명명되었다. 또한, 동일한 곤충의 추출물에서 JH II로 명명된 미량 성분의 유충호르몬이 분리되었으며, C7에 메틸기(methyl group)이 있다는 점에서 JH I과 차이점을 보였다(Meyer et al., 1968). 세 번째 유충호르몬인 JH III는 methyl 10,11-epoxy-farnesoate로 *Manduca sexta*의 알라타체를 넣어놓은 배지에서 분리하였다(Judy et al., 1973). JH III는 C3, C7 및 C11에 모두 메틸기가 달려있다는 점에서 다른 유충호르몬들과 차이점을 보였으며, 다양한 종의 곤충에서 가장 공통적으로 존재하는 유충호르몬이다(Schooley et al., 1984). 그 외에 trihomosesquiterpenoid인 JH 0와 그 이성질체인 4-methyl JH I (iso-JH 0)가 *M. sexta*의 알에서 분리되었지만, 아직까지 그 역할은 알려져 있지 않다(Bergot et al., 1981). JH III bisepoxy (JHB3)는 체외 배양 중인 *Drosophila melanogaster*의 환상샘(ring glands)에서 분리되었다. 또한, 갈색날개노린재(*Plautia stali*)에서 가장 최근에 분리된 JH III skipped bisepoxide (JHSB3)는 노린재목 곤충에만 존재하는 유충호르몬으로 C2,3과 C10,11에 두 개의 에폭시드(epoxide)를 가지고 있다(Kotaki, 1996; Kotaki et al., 2009).

변태 억제 호르몬으로 알려진 유충호르몬은 화학 구조적으로는 acyclic sesquiterpenoids에 속하는 물질이며, 알라타체라 불리는 한 쌍의 내분비샘(endocrine glands)에서 분비된다. 유충호르몬은 탈피, 변태, 생식, 다면발현성(polyphenism), 사회성 곤충에서의 계급분화 등 다양한 곤충의 생리에서 중요한 역할을 한다(Hartfelder, 2005; Raikhel et al., 2005). 곤충의 생리에서 유충호르몬이 매우 중요한 역할을 수행함에도 불구하고 유충호르몬이 이러한 생리적 과정을 조절하는 기작에 대해서는 아직 정확히 밝혀지지 않았다(Riddiford, 2008).

유충호르몬 수용체(Receptor)

Ethyl methanesulfonate mutagenesis (ESM) 기법으로 돌연변이를 유발한 노랑초파리(*Drosophila melanogaster*)를 대상으로 유충호르몬 작용제인 methoprene을 과도하게 처리한 후 반우점적(semidominant)으로 선발된 돌연변이가 methoprene-tolerant (Met) 유전자 돌연변이 *Drosophila (Met¹)*인 것으로 밝혀짐으로써, Met 단백질이 잠재적인 유충호르몬의 수용체일 가능성이 제기되었다(Wilson and Fabian, 1986). 하지만 다양한 곤충 중에서 유충호르몬의 status quo 활성이 잘 알려져 있음

에도 불구하고 *Met* 돌연변이 초파리는 생식 등에서 사소한 결함은 있었지만 성충 시기까지 생존하였는데, 이는 *Met*의 이원체(paralog)인 *Germ-cell expressed (Gce)*가 *Met*을 부분적으로 뒷받침하였기 때문인 것으로 생각되었다(Abdou et al., 2011; Baumann et al., 2010a, 2010b). 이후 초파리와는 달리 하나의 *Met* 상동유전자만 가지고 있는 거짓쌀도둑거저리(*Tribolium castaneum*)에서 RNA interference 기법을 활용하여 *Met* 단백질의 발현을 억제하면 조숙 용화(premature pupation)가 일어나 치사 한다는 것이 밝혀지면서 *Met*이 유충호르몬 수용체인 것이 실험적으로 구명되었다(Konopova and Jindra, 2007).

*Met*은 한 개의 basic-helix-loop-helix (bHLH)와 두 개의 Per-Ahr/Arnt-Sim (PAS) domain (PAS-A와 Pas-B)을 가지는 bHLH-PAS 계열의 transcription factor이다(Ashok et al., 1998). *Met*과 같은 bHLH-PAS 계열의 단백질이 transcription factor로 활성화되기 위해서는 또 다른 bHLH-PAS 단백질과 dimer를 형성해야 하며 *Gce*, Taiman (Tai), Ftz-F1-interacting steroid receptor coactivator (FISC), CYCLE (CYC) 및 steroid receptor coactivator (SRC) 등의 bHLH-PAS 단백질이 유충호르몬 수용체의 partner로 알려져 있다(Godlewski et al., 2006; Li et al., 2011; Shin et al., 2012; Zhang et al., 2011).

Met 단백질의 PAS-A와 PAS-B는 각각 PAS fold 1과 fold 2를 구성하는데, 각각의 PAS fold는 한쪽 측면이 3-4개의 α -helix에 이어진 five-stranded antiparallel β -sheet로 이루어져 있다(Bernardo and Dubrovsky, 2012a; Hefti et al., 2004). PAS fold 1은 PAS A motif와 3개의 sequence block (block I, II 및 III)으로 이루어져 있으며, PAS A motif와 block I, block II와 block III 사이에는 loop가 존재한다. PAS fold 2는 PAS B motif와 PAS-associated C-terminus (PAC) 부위로 구성되어 있으며, PAC 부위에는 3개의 β -sheet와 1개의 α -helix가 존재하는데, 이 PAS fold 2가 소수성의 ligand-binding pocket을 구성하고 (Charles et al., 2011), fold 2에 결합한 유충호르몬은 *Met*의 입체구조적 변이(conformational change)를 유도함으로써 partner 단백질과 결합하여 heterodimer를 형성하게 한다(Bernardo and Dubrovsky, 2012b).

일반적으로 유충호르몬이 곤충의 유전자 발현을 조절하는 기작에 대해서는 잘 알려져 있지 않지만, *Aedes* 모기에서 유충호르몬에 의해 조절되는 곤충의 유전자 가운데 early trypsin (ET)와 krüppel homolog 1 (*Kr-h1*)과 같은 몇몇 JH-responsive elements (JHRE)가 *Met*과 FISC에 의해 매개되는 것으로 확인되었으며, 이들 JHRE는 bHLH-PAS transcription factor의 특징인 비대칭적인 E-box-like motif를 가지고 있었다(Li et al., 2011). 이러한 결과는 bHLH-PAS 단백질이 DNA-binding trans-

criptional activators로 작용한다는 것에 근거하여, 유충호르몬이 *Met*과 bHLH-PAS partner의 결합을 증가하고, *Met*과 bHLH-PAS partner의 heterodimer가 JHER의 E-box-like motif에 결합한다는 것을 시사한다(Bernardo and Dubrovsky, 2012b). 다른 한편으로는, 초파리에서 유충호르몬의 존재 하에 *Met*이 핵수용체(nuclear receptor)인 β Ftz-F1과 상호작용하여 반응기능인자(competence factor)로 작용하기 때문에(Bernardo and Dubrovsky, 2012a), *Met*이 DNA-binding transcriptional activators가 아닌 transcriptional coactivators로 작용할 수도 있다. *Met*과 β Ftz-F1의 상호작용은 PAS-B domain의 C-terminal에 위치한 nuclear receptor box (NR box)인 LXXLL motif를 통해 이루어지며, 이 상호작용은 유충호르몬에 의해 강화되는 반면 PAS-B domain에 결손이 있으면 저해되었다. 이는 유충호르몬에 의해 활성화된 *Met*은 LXXLL motif를 이용하여 nuclear receptor와 상호작용을 함으로써 유충호르몬에 의한 신호전달 체계(signaling pathway)에 참여한다는 것을 시사한다.

유충호르몬에 의해 조절되는 transcription factor로 직간접적으로 작용하기 위해서는 세포 핵 안팎으로 전좌(translocation)할 수 있어야 하는데, *Met*에는 nuclear localization signal (NLS) 및 nuclear export signal (NES) 등의 세포 핵 내로의 이출입과 관련된 다양한 motifs가 존재하고, 그 중에서도 특히 PAS-B domain에 있는 NES-2는 *Drosophila*에서 유충호르몬의 존재 하에서 *Met*이 세포질에서 축적되어 핵 내로 전좌하도록 초래하는 것으로 확인되었다(Greb-Markiewicz et al., 2011). 유충호르몬에 의해 *Met*이 핵 내로 이입되는 기작은 아직 정확히 구명되지는 않았지만 heat shock protein 83(HSP83)에 의해 촉진되는 것으로 알려져 있다(He et al., 2014). 종합적으로, *Met*은 유충호르몬에 의존적인 입체구조적 변이 및 HSP와의 상호작용을 통하여 세포 핵 내외로 이출입 하는 것으로 여겨진다.

곤충생장조절제(Insect growth regulator, IGR)

Williams (Williams, 1967)는 곤충의 호르몬과 유사한 작용을 하는 살충제가 상대적으로 환경에 대한 독성이 매우 낮다는 중요한 장점을 가지기 때문에 이를 3세대 살충제라고 언급한 바 있으며, 곤충생장조절제라는 용어는 1972년에 처음으로 사용되었다(Schneiderman, 1972). 초창기의 곤충생장조절제는 유충호르몬이나 탈피호르몬과 같이 곤충의 성장과 발달을 조절하는 호르몬의 작용제나 길항제로서 곤충의 정상적인 발달을 저해하는 물질을 지칭하는 의미로 사용되었으나, 이후 곤충의 표피에서 키틴의 합성을 억제하는 물질도 키틴 합성 억제제라는 명칭으로 곤충생장조절제의 범주에 포함되었다. 이들 곤

충생장조절제는 환경에 대한 독성이 유기합성 살충제에 비해 상대적으로 낮을 뿐만 아니라 대상 해충에 매우 특이적으로 작용한다는 점에서 기존의 살충제들과는 확연한 차이를 보인다 (Pener and Dhadialla, 2012).

유충호르몬 작용제(Juvenile hormone agonist, JHA)

Williams (1956)가 *Platysamia cecropia*에서 최초로 유충호르몬 활성을 가진 지질 추출물을 분리한 이후, 이러한 유충호르몬 활성의 지질 추출물이 미생물, 식물 및 다양한 척추동물의 기관에도 존재한다는 것이 알려지면서(Schneiderman et al., 1960; Williams et al., 1959) 이들의 살충제로의 사용 가능성이 대두되었다(Williams, 1967).

갈색거저리(*Tenebrio molitor*)의 배설물에서 유충호르몬 활성을 가지는 acyclic sesquiterpenoid alcohol인 farnesol이 분리되어 그 화학 구조가 처음으로 구명되면서 유충호르몬 활성을 가지는 신물질을 탐색하는 연구가 폭넓게 이루어졌다(Schmialek, 1961). 또한, 비슷한 시기에 이른바 “paper factor”라고 알려진 juvabion이 캐나다발삼나무의 제지 원료에서 분리되면서(Bowers et al., 1966), 일부 식물체가 초식 곤충에 대항하기 위해서 유충호르몬 작용제를 합성하도록 진화적 적응을 했을 수 있다는 가설이 제기되었다(Slama and Williams, 1965). 이후 유충호르몬 활성에 기반한 곤충과 식물 간의 상호 작용에 대한 연구가 활발히 이루어졌으나, 일반적으로 식물은 유충호르몬 활성이 매우 낮은 약극성의 sesquiterpenoid 물질을 함유하고 있기 때문에 실질적으로 식물체에서 분리된 유충호르몬 작용제는 몇 가지 되지 않았다(Bowers, 2012).

이후 10여년 동안에는 다양한 isoprenoid 계열의 유충호르몬 작용제가 유기합성 되었으며, 그 중 methoprene이라 명명된 11-methoxy-3,7,11-trimethyldodeca-2,4-dienoate가 특히 효과적인 유충호르몬 활성을 보여 곤충생장조절제로는 최초로 상업화되었다(Henrick et al., 1973). 1981년에는 기존의 유충호르몬 작용제의 분자 구조에 4-phenoxyphenyl기를 삽입한 nonisoprenoid 계열의 유충호르몬 작용제가 유기합성 되었으며, 그 중 fenoxycarb는 methoprene보다 우수한 살란 활성과 살충 활성을 보여주어 실용화되었다(Masner et al., 1987). 4-phenoxyphenyl 계열의 유충호르몬 작용제 중 가장 많이 알려진 물질은 결사슬(side chain)에 pyridyl 구조를 가지고 있는 pyriproxyfen이다. Fenoxycarb와 마찬가지로 pyriproxyfen 또한 모기와 바퀴벌레 등을 포함한 다양한 해충 종에 대해 유충호르몬에 기반한 생리 활성을 보여주었다(Banks and Lofgren, 1991; Koehler and Patterson, 1991; Okazawa et al., 1991).

현재까지 알려진 유충호르몬 작용제는 화학 구조에 따라 다음과 같은 9개의 계열로 분류되고 있다: 1. 동물 및 식물 유래의 천연 juvenoids; 2. Farnesoates; 3. dodecadienates; 4. alicyclic terpenoids; 5. heterocyclic juvenoids; 6. aryl terpenoids; 7. simple non-isoprenoid juvenoids; 8. polycyclic non-isoprenoid juvenoids; 9. juvanogens (Sláma, 2016). 높은 생물 활성과 상대적으로 낮은 급성 독성을 가진다는 특징으로 인해, 오늘날 유충호르몬 작용제는 모기나 바퀴벌레와 같은 도시 해충 및 저장물 해충을 방제하는 데 효과적으로 이용되고 있다(Bennett and Reid, 1995; Letellier et al., 1995).

항유충호르몬제(Anti-JH agent)

현재까지 개발된 수많은 유충호르몬 작용제는 대개의 경우 모기와 파리 및 벼룩 등과 같이 성충 단계에서 해충으로 인식되는 특정 종에 대해서만 사용이 국한되고 있기 때문에(Pedigo et al., 2021), 이에 대한 대안으로 유충호르몬의 합성을 억제하는 물질을 찾기 위한 연구가 이루어져 왔다(Kaneko et al., 2011). 최초로 발견된 항유충호르몬제는 풀솜꽃(*Ageratum houstonianum*)에서 분리된 precocene으로 노린재목을 포함한 몇몇 종의 곤충에 대하여 조숙 변태(precocious metamorphosis)를 유발하였다(Banerjee et al., 2008; Bowers et al., 1976). Precocene 및 그의 합성 유도체들은 알라타체를 비가역적으로 파괴하여 유충호르몬의 합성을 억제함으로써 항유충호르몬 활성을 보이는 것으로 알려졌다(Azambuja and Garcia, 1991; Schooneveld, 1979).

Precocene이 발견된 이후로 ethyl 4-[2-(tert-butylcarbonyloxy)butoxy]benzoate (ETB), (S)-ethyl 4-[2-benzylhexyloxy]benzoate (KF-13S), fluoromevalonate (FMev), ethyl (E)-3-methyl-2-dodecenoate (EMD) 등 보다 활성이 높은 항유충호르몬제를 개발하기 위한 다양한 시도들이 이루어졌다(Furuta et al., 2007; Stall, 1986). 그 중 ETB는 *M. sexta*와 누에나방(*Bombyx mori*)에 대해서 항유충호르몬 활성과 유충호르몬 작용제 활성을 모두 보였다(Stall, 1986). ETB의 유도체인 KF-13S도 누에나방에 대해서 유충호르몬 결핍의 명확한 증거인 조숙 변태를 유도하는 활성을 강하게 보였으며, 유충호르몬 작용제인 methoprene을 처리하면 KF-13S의 항유충호르몬 활성이 상쇄되었다(Furuta et al., 2007). 하지만, ETB와 마찬가지로 KF-13S 또한 고농도에서는 항유충호르몬 활성이 급격히 감소하고 유충호르몬 작용제 활성을 보였다(Furuta et al., 2007). 유충호르몬이 생합성되는 알라타체를 파괴하는 precocene과는 달리 KF-13S는 알라타체에서 유충호르몬의 생합성에 관여하는 다양한 효소의

발현을 억제함으로써 항유충호르몬 활성을 보이는 것으로 알려졌다(Kaneko et al., 2011).

유충호르몬 길항제(Juvenile hormone antagonist, JHAN)

유충호르몬 작용제 활성을 가지는 juvabione이 식물체에서 최초로 보고된 이후 식물체가 유충호르몬 작용제를 초식 곤충에 대한 방어 기작의 하나로 이용할 가능성이 대두되었으나 (Sláma and Williams, 1966), 실제로 식물체에서 발견된 유충호르몬 작용제는 몇 가지 되지 않았다(Bowers, 2012). 이에 따라 유충호르몬 작용제 보다는 오히려 유충호르몬 길항제가 초식 곤충에 대한 식물체의 방어 수단으로 더 중요한 역할을 할 가능성이 제시되었다(Lee et al., 2015).

최근 유충호르몬 신호전달 체계에서 Met이 transcription activator 또는 coactivator로 작용하기 위해 자신의 partner 단백질(SRC, FISC, CYC 등)과 결합하여 수용체 복합체(receptor complex)를 형성하는 과정이 유충호르몬에 의해 증대된다는 사실에 착안하여(Fig. 1), 이집트숲모기의 Met과 FISC 또는 CYC 단백질 유전자를 각각 bait와 prey로 도입한 yeast two-hybrid system을 이용해서 유충호르몬이 증대하는 Met과 partner 단백질의 결합을 *in vitro*에서 재현함으로써(Lee et al., 2015), β -galactosidase ligand binding assay를 통하여 화합물 library 뿐만 아니라 식물과 미생물로부터 다양한 유충호르몬 길항제가 분리되었다(Kim et al., 2020; Lee et al., 2018a, 2018b; Park

et al., 2020; Woo et al., 2020).

그 중, 식물의 정유 추출물로부터 분리한 undecyl aldehyde와 dodecyl aldehyde는 Met과 FISC의 결합을 농도 의존적으로 저해함으로써 암컷 흰줄숲모기(*Aedes albopictus*) 성충의 난소 발달과 유충호르몬에 의해 조절되는 것으로 알려진 *Hairy* 및 *Kr-h1* 유전자의 발현을 억제하였다(Lee et al., 2018a). 특히, 대표적인 유충호르몬 작용제인 pyriproxifen과 비교하여 어린 유충 단계의 흰줄숲모기에 대해 약 6.6-10.4배 낮은 LC₅₀ 값을 가지는 것으로 나타났다(Lee et al., 2018a). *Streptomyces celluloflavus* AN120537 균주에서 분리한 antinycin 유도체들 또한 높은 유충호르몬 길항제 활성과 함께 흰줄숲모기, 배추좀나방(*Plutella xylostella*), 꽃노랑총채벌레(*Frankliniella occidentalis*) 및 점박이응애(*Tetranychus urticae*)에 대해 높은 살충 활성을 보였다(Kim et al., 2020).

친환경 살충제로서 유충호르몬 길항제의 전망

유기합성 살충제의 과도한 사용으로 촉발된 환경 오염과 저항성 해충의 출현 등의 문제를 해결하기 위해서 화합물 library를 비롯하여 식물 및 미생물 등의 생물 자원으로부터 보다 친환경적인 살충 활성 물질을 탐색하기 위한 폭넓은 시도가 이루어져 왔으며, 곤충생장조절제는 미생물 살충제와 더불어 기존의 유기합성 살충제를 효과적으로 대체할 수 있는 유망한 수단으로 간주되고 있다(Cantrell et al., 2012). 특히, 유충호르몬이 곤충의 유충 및 성충 단계 모두에서 다양한 생리적 과정에 관련되

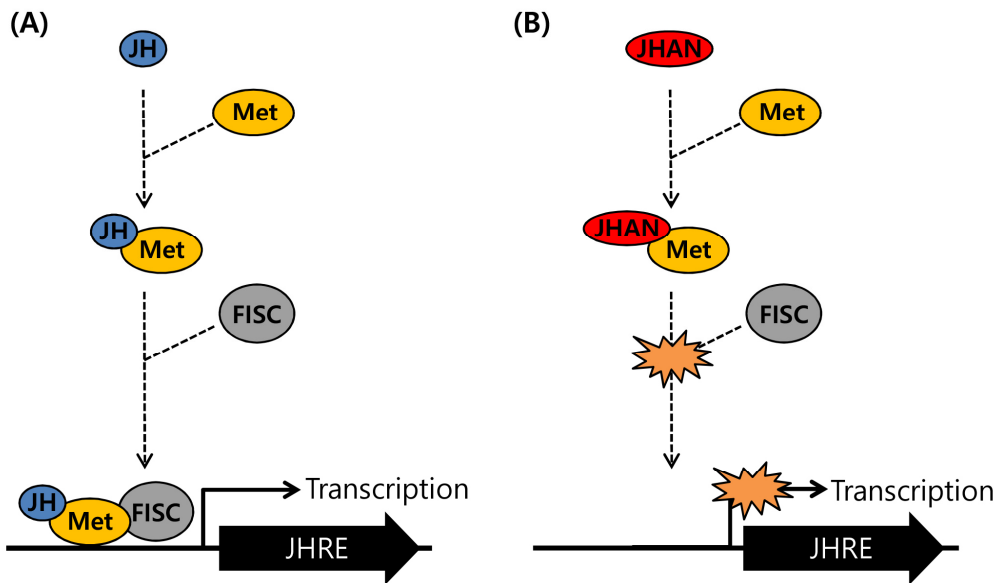


Fig. 1. Schematic diagram of JH signaling pathway (A) and interference of JH signaling by JHAN (B).

어 있다는 점에서 유충호르몬 작용제와 항유충호르몬제 및 유충호르몬 길항제는 곤충의 발달 및 생식에서 유충호르몬의 역할을 구명하는데 이용될 수 있을 뿐만 아니라 해충 방제를 위한 곤충생장조절제로서 유용할 것으로 기대되고 있다(Stall, 1986).

실제로 fenoxycarb나 pyriproxyfen 같은 유충호르몬 작용제는 상업화되어 해충 방제의 현장에서 매우 성공적으로 이용되고 있다(Bennett and Reid, 1995). 그러나 유충호르몬 작용제는 적용 대상 해충이 몇몇 종에 국한되어 있기 때문에 그 사용에 제한이 있는 실정이며(Pedigo et al., 2021), 이러한 유충호르몬의 대안으로 제시된 항유충호르몬제의 경우에도 살충 활성이 매우 낮거나 포유동물에 대해 발암 물질로 작용하는 등의 문제로 상업화된 살충제로의 개발은 이루어지지 않고 있다(Alzogaray and Zerba, 2017; Pedigo et al., 2021).

이에 반해 유충호르몬 길항제는 수용체인 Met과의 결합에 대한 유충호르몬과의 경쟁을 통해 유충호르몬 수용체 복합체의 형성을 방해한다는 점에서 기존의 항유충호르몬제와는 다른 작용 기작을 가지고 있으며, 우수한 살충 활성을 보여주었기 때문에 친환경 생물살충제로 개발될 가능성이 높을 것으로 기대된다(Kim et al., 2020). 생물살충제로서 유충호르몬 길항제는 유충호르몬 작용제와 마찬가지로 대상 곤충의 유충호르몬과 동일한 작용점을 가지기 때문에 저항성 발달이 보다 어렵다는 장점이 있다. 또한, 대부분의 해충 방제는 이동성이 높은 성충보다는 이동성이 낮은 유충 단계에 초점이 맞추어져 있는데, 유충호르몬이 곤충의 체내에 높은 농도로 존재하는 유충 시기에는 유충호르몬 작용제보다는 유충호르몬 길항제가 더욱 효과적으로 작용할 수 있을 것이다. 마지막으로, 수용체-배위자(ligand) 관계의 관점에서 결합 부위와 활성 부위의 적합성이 수용체와 모두 일치해야 하는 유충호르몬 작용제에 비하여 결합 부위만 일치하면 되는 유충호르몬 길항제가 생리생화학적으로 더욱 풍부하게 자연계에 존재할 가능성이 높을 것이다. 더욱이 자연계에 존재하는 이러한 유충호르몬 길항제를 선도물질(lead compound)로 사용하여 유충호르몬 길항제 활성이 더욱 강화된 유도체를 제작할 경우 새로운 친환경 곤충생장조절제 개발에 매우 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청에서 시행한 농축산물 생산현장의 안전관리 기술개발사업(PJ1015927)의 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

저자 직책 & 역할

최재영: 서울대 연구교수; 문헌 조사 및 논문 작성

제연호: 서울대 교수; 문헌 조사 및 논문 교정

모든 저자는 원고를 읽고 투고에 동의하였음.

Literature Cited

- Abdou, M.A., He, Q., Wen, D., Zyaan, O., Wang, J., Xu, J., Baumann, A.A., Joseph, J., Wilson, T.G., Li, S., 2011. Drosophila Met and Gce are partially redundant in transducing juvenile hormone action. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 41, 938-945.
- Alzogaray, R.A., Zerba, E.N., 2017. *Rhodnius prolixus* intoxicated. *J. Insect Physiol.* 97, 93-113.
- Ashok, M., Turner, C., Wilson, T.G., 1998. Insect juvenile hormone resistance gene homology with the bHLH-PAS family of transcriptional regulators. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95, 2761-2766.
- Azambuja, P.d., Garcia, E.S., 1991. Effects of proallatotoxins (precocenes) on the development and reproduction of *k*: some data. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 86, 113-115.
- Banerjee, S., Kalena, G., Banerji, A., Singh, A., 2008. New synthetic precocenoids as potential insect control agents. *J. Environ. Biol.* 29, 951-957.
- Banks, W., Lofgren, C., 1991. Effectiveness of the insect growth regulator pyriproxyfen against the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae). *J. Entomol. Sci.* 26, 331-338.
- Baumann, A., Barry, J., Wang, S., Fujiwara, Y., Wilson, T.G., 2010a. Paralogous genes involved in juvenile hormone action in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 185, 1327-1336.
- Baumann, A., Fujiwara, Y., Wilson, T.G., 2010b. Evolutionary divergence of the paralogs Methoprene tolerant (Met) and germ cell expressed (gce) within the genus *Drosophila*. *J. Insect Physiol.* 56, 1445-1455.
- Bennett, G., Reid, B., 1995. Insect growth regulators, in: Rust, M.K., Owens, J.M., Reiersen, D.A. (Eds.), *Understanding and controlling the German cockroach*. Oxford University Press, New York, pp. 267-286.
- Bergot, B., Baker, F., Cerf, D., Jamieson, G., Schooley, D., 1981. Qualitative and quantitative aspects of juvenile hormone titers in developing embryos of several insect species: discovery of a new JH-like substance extracted from eggs of *Manduca sexta*. *Juvenile Hormone Biochemistry* 15, 33-45.
- Bernardo, T.J., Dubrovsky, E.B., 2012a. The *Drosophila* juvenile hormone receptor candidates methoprene-tolerant (MET) and germ cell-expressed (GCE) utilize a conserved LIXXL motif to bind the FTZ-F1 nuclear receptor. *J. Biol. Chem.* 287, 7821-7833.
- Bernardo, T.J., Dubrovsky, E.B., 2012b. Molecular mechanisms of

- transcription activation by juvenile hormone: a critical role for bHLH-PAS and nuclear receptor proteins. *Insects* 3, 324-338.
- Bowers, W., Fales, H., Thompson, M., Uebel, E., 1966. Juvenile hormone: identification of an active compound from balsam fir. *Science* 154, 1020-1021.
- Bowers, W.S., 2012. Insect hormones and antihormones in plants, in: Rosenthal, G.A., Berenbaum, M.R. (Eds.), *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*. Academic Press, New York, pp. 431-456.
- Bowers, W.S., Ohta, T., Cleere, J.S., Marsella, P.A., 1976. Discovery of insect anti-juvenile hormones in plants? *Science* 193, 542-547.
- Boyer, S., Zhang, H., Lempérière, G., 2012. A review of control methods and resistance mechanisms in stored-product insects. *Bull. Entomol. Res.* 102, 213-229.
- Cantrell, C.L., Dayan, F.E., Duke, S.O., 2012. Natural products as sources for new pesticides. *J. Nat. Prod.* 75, 1231-1242.
- Charles, J.-P., Iwema, T., Epa, V.C., Takaki, K., Rynes, J., Jindra, M., 2011. Ligand-binding properties of a juvenile hormone receptor, Methoprene-tolerant. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 21128-21133.
- Dennehy, T.J., Degain, B.A., Harpold, V.S., Zaborac, M., Morin, S., Fabrick, J.A., Nichols, R.L., Brown, J.K., Byrne, F.J., Li, X., 2010. Extraordinary resistance to insecticides reveals exotic Q biotype of *Bemisia tabaci* in the New World. *J. Econ. Entomol.* 103, 2174-2186.
- Furuta, K., Ashibe, K., Shirahashi, H., Fujita, N., Yamashita, H., Yamada, N., Kuwano, E., 2007. Synthesis and anti-juvenile hormone activity of ethyl 4-(2-benzylalkyloxy) benzoates and their enantiomers. *J. Pestic. Sci.* 32, 99-105.
- Godlewski, J., Wang, S., Wilson, T.G., 2006. Interaction of bHLH-PAS proteins involved in juvenile hormone reception in *Drosophila*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 342, 1305-1311.
- Greb-Markiewicz, B., Orłowski, M., Dobrucki, J., Ożyhar, A., 2011. Sequences that direct subcellular traffic of the *Drosophila* methoprene-tolerant protein (MET) are located predominantly in the PAS domains. *Mol. Cell. Endocrinol.* 345, 16-26.
- Hartfelder, K., 2005. Endocrine control of insect polyphenism. *Comprehensive Molecular Insect Science* 3, 651-703.
- Hartfelder, K., Emlen, D., 2012. Endocrine control of insect polyphenism, in: Gilbert, L.I. (Ed.), *Insect endocrinology*. Elsevier, pp. 464-522.
- He, Q., Wen, D., Jia, Q., Cui, C., Wang, J., Palli, S.R., Li, S., 2014. Heat shock protein 83(Hsp83) facilitates methoprene-tolerant (Met) nuclear import to modulate juvenile hormone signaling. *J. Biol. Chem.* 289, 27874-27885.
- Hefti, M.H., François, K.J., de Vries, S.C., Dixon, R., Vervoort, J., 2004. The PAS fold: A redefinition of the PAS domain based upon structural prediction. *Eur. J. Biochem.* 271, 1198-1208.
- Henrick, C.A., Staal, G.B., Siddall, J.B., 1973. Alkyl 3, 7, 11-trimethyl-2, 4-dodecadienoates, a new class of potent insect growth regulators with juvenile hormone activity. *J. Agric. Food Chem.* 21, 354-359.
- Hill, C.A., Kafatos, F.C., Stansfield, S.K., Collins, F.H., 2005. Arthropod-borne diseases: vector control in the genomics era. *Nat. Rev. Microbiol.* 3, 262-268.
- Judy, K.J., Schooley, D.A., Dunham, L.L., Hall, M., Bergot, B.J., Siddall, J.B., 1973. Isolation, structure, and absolute configuration of a new natural insect juvenile hormone from *Manduca sexta*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 70, 1509-1513.
- Kaneko, Y., Furuta, K., Kuwano, E., Hiruma, K., 2011. An anti-juvenile hormone agent, ethyl 4-(2-benzylhexyloxy) benzoate, inhibits juvenile hormone synthesis through the suppression of the transcription of juvenile hormone biosynthetic enzymes in the corpora allata in *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 41, 788-794.
- Kim, J.H., Choi, J.Y., Park, D.H., Park, D.-J., Park, M.G., Kim, S.Y., Ju, Y.J., Kim, J.Y., Wang, M., Kim, C.-J., Je, Y.H., 2020. Isolation and characterization of the insect growth regulatory substances from actinomycetes. *Comp. Biochem. Physiol. C-Toxicol. Pharmacol.* 228, 108651.
- Koehler, P.G., Patterson, R.S., 1991. Incorporation of pyriproxyfen in a German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) management program. *J. Econ. Entomol.* 84, 917-921.
- Konopova, B., Jindra, M., 2007. Juvenile hormone resistance gene Methoprene-tolerant controls entry into metamorphosis in the beetle *Tribolium castaneum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 10488-10493.
- Kotaki, T., 1996. Evidence for a new juvenile hormone in a stink bug, *Plautia stali*. *J. Insect Physiol.* 42, 279-286.
- Kotaki, T., Shinada, T., Kaihara, K., Ohfuné, Y., Numata, H., 2009. Structure determination of a new juvenile hormone from a heteropteran insect. *Org. Lett.* 11, 5234-5237.
- Lee, S.-H., Ha, K.B., Park, D.H., Fang, Y., Kim, J.H., Park, M.G., Woo, R.M., Kim, W.J., Park, I.-K., Choi, J.Y., Je, Y.H., 2018a. Plant-derived compounds regulate formation of the insect juvenile hormone receptor complex. *Pest. Biochem. Physiol.* 150, 27-32.
- Lee, S.-H., Lim, H.N., Choi, J.Y., Park, D.H., Ahn, B.H., Fang, Y., Kim, J.H., Park, M.G., Woo, R.M., Lee, B.R., Kim, W.J., Ko, Y.K., Lee, I.Y., Je, Y.H., 2018b. Mosquitocidal activity of penfluridol as juvenile hormone antagonist. *J. Asia-Pac. Entomol.* 21, 130-133.
- Lee, S.-H., Oh, H.-W., Fang, Y., An, S.-B., Park, D.-S., Song, H.-H., Oh, S.-R., Kim, S.-Y., Kim, S., Kim, N., Raikhel, A.S., Je, Y.H., Shin, S.W., 2015. Identification of plant compounds that disrupt the insect juvenile hormone receptor complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 1733-1738.
- Letellier, C., Haubruge, E., Gaspar, C., 1995. Biological activity of fenoxycarb against *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* 31, 37-42.

- Li, M., Mead, E.A., Zhu, J., 2011. Heterodimer of two bHLH-PAS proteins mediates juvenile hormone-induced gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 638-643.
- Masner, P., Angst, M., Dorn, S., 1987. Fenoxycarb, an insect growth regulator with juvenile hormone activity: A candidate for *Heliothis virescens* (F.) control on cotton. *Pestic. Sci.* 18, 89-94.
- Meyer, A.S., Schneiderman, H.A., Hanzmann, E., Ko, J.H., 1968. The two juvenile hormones from the *Cecropia* silk moth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 60, 853-860.
- Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., Hens, L., 2016. Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. *Front. Public Health* 4, 148.
- Okazawa, T., Bakote'e, B., Suzuki, H., Kawada, H., Kere, N., 1991. Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen, against *Anopheles punctulatus* on north Guadalcanal, Solomon Islands. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 7, 604-607.
- Park, D.H., Choi, J.Y., Lee, S.-H., Kim, J.H., Park, M.G., Kim, J.Y., Wang, M., Kim, H.J., Je, Y.H., 2020. Mosquito larvicidal activities of farnesol and farnesyl acetate via regulation of juvenile hormone receptor complex formation in *Aedes* mosquito. *J. Asia-Pac. Entomol.* 23, 689-693.
- Pedigo, L.P., Rice, M.E., Krell, R.K., 2021. Entomology and pest management. Waveland Press. Illinois.
- Pener, M.P., Dhadialla, T.S., 2012. An overview of insect growth disruptors; applied aspects. *Adv. Insect Physiol.* 43, 1-162.
- Raikhel, A., Brown, M., Belles, X., 2005. 3.9 Hormonal control of reproductive processes. *Comprehens Mol. Insect Sci.* 3, 433-491.
- Riddiford, L.M., 2008. Juvenile hormone action: a 2007 perspective. *J. Insect Physiol.* 54, 895-901.
- Roller, H., 1967. The structure of the juvenile hormone. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 6, 179-180.
- Schmialek, P., 1961. Die Identifizierung zweier im Tenebriokot und in Hefe vorkommender Substanzen mit Juvenilhormonwirkung. *Zeitschrift für Naturforschung B* 16, 461-464.
- Schneiderman, H.A., 1972. Insect hormones and insect control, in: Menn, J.J., Beroza, M. (Eds.), *Insect juvenile hormones*. Academic Press, New York and London, pp. 3-27.
- Schneiderman, H.A., Gilbert, L.I., Weinstein, M.J., 1960. Juvenile hormone activity in micro-organisms and plants. *Nature* 188, 1041-1042.
- Schooley, D., Baker, F., Tsai, L., Miller, C., Jamieson, G., 1984. Juvenile hormones O, I, and II exist only in Lepidoptera, in: Hoffmann, J., Porchet, M. (Eds.), *Biosynthesis, metabolism and mode of action of invertebrate hormones*. Springer-Verlag, pp. 373-383.
- Schooneveld, H., 1979. Precocene-induced necrosis and haemocyte-mediated breakdown of corpora allata in nymphs of the locust *Locusta migratoria*. *Cell Tissue Res.* 203, 25-33.
- Shin, S.W., Zou, Z., Saha, T.T., Raikhel, A.S., 2012. bHLH-PAS heterodimer of methoprene-tolerant and Cycle mediates circadian expression of juvenile hormone-induced mosquito genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 16576-16581.
- Silva, J.J.d., Mendes, J., 2007. Susceptibility of *Aedes aegypti* (L) to the insect growth regulators diflubenzuron and methoprene in Uberlândia, State of Minas Gerais. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 40, 612-616.
- Sláma, K., 2016. Pharmacology of insect juvenile hormones. *Comprehensive Insect Physiol. Biochem. Pharmacol.* 11, 357-394.
- Slama, K., Williams, C.M., 1965. Juvenile hormone activity for the bug *Pyrrhocoris apterus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 54, 411-414.
- Sláma, K., Williams, C.M., 1966. 'Paper factor' as an inhibitor of the embryonic development of the European bug, *Pyrrhocoris apterus*. *Nature* 210, 329-330.
- Stall, G., 1986. Anti juvenile hormone agents. *Annu. Rev. Entomol.* 31, 391-429.
- Wigglesworth, V.B., 1936. Memoirs: The function of the corpus allatum in the growth and reproduction of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). *J. Cell Sci.* 2, 91-121.
- Williams, C.M., 1956. The juvenile hormone of insects. *Nature* 178, 212-213.
- Williams, C.M., 1967. Third-generation pesticides. *Sci. Am.* 217, 13-17.
- Williams, C.M., Moorhead, L.V., Pulis, J.F., 1959. Juvenile hormone in thymus, human placenta and other mammalian organs. *Nature* 183, 405-405.
- Wilson, T.G., Fabian, J., 1986. A *Drosophila melanogaster* mutant resistant to a chemical analog of juvenile hormone. *Dev. Biol.* 118, 190-201.
- Woo, R.M., Park, M.G., Choi, J.Y., Park, D.H., Kim, J.Y., Wang, M., Kim, H.J., Woo, S.D., Kim, J.S., Je, Y.H., 2020. Insecticidal and insect growth regulatory activities of secondary metabolites from entomopathogenic fungi, *Lecanicillium attenuatum*. *J. Appl. Entomol.* 144, 655-663.
- Zhang, Z., Xu, J., Sheng, Z., Sui, Y., Palli, S.R., 2011. Steroid receptor co-activator is required for juvenile hormone signal transduction through a bHLH-PAS transcription factor, methoprene tolerant. *J. Biol. Chem.* 286, 8437-8447.