



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년01월28일

(11) 등록번호 10-1588551

(24) 등록일자 2016년01월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A01N 59/00 (2006.01) A01N 25/18 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A01N 59/00 (2013.01)

A01N 25/18 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0008816

(22) 출원일자 2015년01월19일

심사청구일자 2015년01월19일

(56) 선행기술조사문헌

W02012108480 A1*

2014 한국응용곤충학회 정기총회 및 춘계학술발표회 프로시딩 94면

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

김욱

서울특별시 서초구 서초중앙로 188, C-709

나자현

경기도 고양시 일산동구 위시티4로 80, 108동 903호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

한양특허법인

전체 청구항 수 : 총 7 항

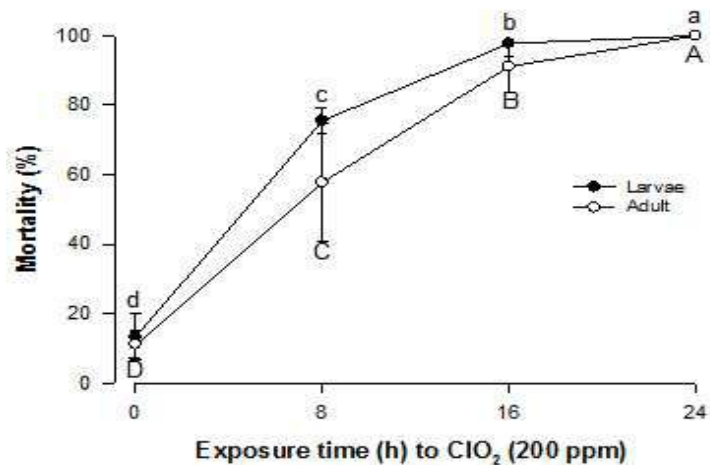
심사관 : 강원길

(54) 발명의 명칭 살충 방법

(57) 요약

본 발명은, 살충 대상물에 이산화염소를 처리하여 활성산소를 유발하는 것을 특징으로 하는 살충 방법에 대한 것이다.

대표도 - 도1a



(72) 발명자

천용식

서울특별시 양천구 목동서로2길 22, 114동 1404호

김용균

경기도 구리시 장자대로37번길 20, 201동 503호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 114063-3

부처명 농림축산식품부

연구관리전문기관 농림수산물기술기획평가원

연구사업명 농생명산업기술개발사업

연구과제명 저곡해충 방제를 위한 이산화염소 현장 이용기술 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교

연구기간 2014.09.25 ~ 2017.09.24

명세서

청구범위

청구항 1

RNAi(RNA interference)에 의해 항산화효소 유전자 발현이 억제된 거짓쌀도둑거저리에, 이산화염소를 처리하여 활성산소를 유발하는 것을 특징으로 하는 살충 방법.

청구항 2

삭제

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 거짓쌀도둑거저리는 거짓쌀도둑거저리의 유충, 번데기 및 성충에서 선택되는 하나 이상인 살충 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 항산화효소는 과산화물 제거효소(superoxide dismutase; SOD), 카탈라아제(catalase; CAT) 및 과산화효소(peroxidase; POX)에서 선택되는 하나 이상인, 살충 방법.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 항산화효소는 과산화물 제거효소(superoxide dismutase; SOD) 또는 티오레독신-과산화효소(thioredoxin-peroxidase; Trx)인, 살충 방법.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 과산화물 제거효소(superoxide dismutase; SOD)는 유전자 등록번호(GenBank accession number)가 KP342269인, 살충 방법.

청구항 7

제 5항에 있어서,

상기 티오레독신-과산화효소(thioredoxin-peroxidase; Trx)는 유전자 등록번호(GenBank accession number)가 KP342270인, 살충 방법.

청구항 8

제 1항에 있어서,

상기 RNAi(RNA interference)는

AGTGCGCCCAATAATGCTATGC (Tc SOD FP);

CGTGGGTAAACCTTGAGAGTGTTTC (Tc SOD RP);

TGGATCCGGTCACTGAACGCCAG (Tc Trx FP);

GACACCGGACGAGGAGTCGTGCCA (Tc Trx RP);

TAATACGACTCACTATAGGGAGAAGTGCGCCCAATAATGCTATGC (Tc dsSOD FP);

TAATACGACTCACTATAGGGAGACGTGGGTAAACCTTGAGAGTGTTTC (Tc dsSOD RP);

TAATACGACTCACTATAGGGAGATGGATCCGGTCACTGAACGCCAG (Tc dsTrx FP);

TAATACGACTCACTATAGGGAGAGACACCGGACGAGGAGTCGTGCCA (Tc dsTrx RP);

TAATACGACTCACTATAGGGAGACAATACGGAGCTAGCGTTACG (Tc dsCON FP); 및

TAATACGACTCACTATAGGGAGAGGTATGCTTCTCTGCATATGC (Tc dsCON RP) 중 하나 이상의 서열을 갖는 프라이머를 이용하여 제조되는 것인, 살충 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 거저살도독거저리 등의 해충 살충 방법에 대한 것이다.

배경 기술

[0002] 거저살도독거저리(*Tribolium castaneum*)은 딱정벌레목 거저리과에 속한 다식성 해충이다. 이 해충은 수확 후 저장 곡물 또는 이들의 가공품에 경제적 피해를 주는 주요 해충이다. 이러한 물리적 손상 이외에 이 해충은 냄새샘으로부터 발암성 퀴논물질을 분비하여 인체에 알레르기를 일으키는 화학적 손상을 일으키고 있다. 집안에서 흔히 볼 수 있으며 산이나 들판의 나무껍질 밑에 숨어 있는 거저살도독거저리는 전세계에 분포하고 있다. 유기인계 또는 피레스로이드 계통의 화학 살충제를 이용하여 이 해충을 빠르고 효과적으로 방제할 수 있다. 또한 메틸 브로마이드(methyl bromide; MB)를 이용한 훈증제 처리는 저장물의 경우에 효과적 방제 기술이다. 그러나 MB 물질의 오존층 파괴라는 환경문제와 인체에 대한 독성에 따라 대체 기술의 개발이 요구되고 있다. 또한, 안전농산물 및 먹거리를 추구하기 위해서는 비화학적 환경친화형 해충 방제 기술의 요구가 높아지고 있다. 그러나, 기존 연구를 살펴보면 산화 훈증제가 곤충 방제에 영향을 준다고 알려져 있지만 그 기작에 대해선 밝혀진 바가 없으며, 활성산소를 유발함에 따라 살충 효과를 나타내는 물질에 대해서는 어떠한 연구도 없는 실정이다.

[0004] 한편, 이산화염소 (Chlorine Dioxide)는 표백제로 알려져있는 물질로, 대한민국 공개특허 제 2001-0029166호 등에는 이산화염소의 펄프 표백 방법에 대한 발명이 기재되어 있다. 그러나, 이산화염소를 이용한 거저살도독거저리 살충 방법에 대한 연구는 전무한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제 2001-0029166호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 거저살도독거저리의 유충, 번데기, 성충 등의 해충을 효과적으로 살충할 수 있는 방법의 제공을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명은 살충 대상물에 이산화염소를 처리하여 활성산소를 유발하는 것을 특징으로 하는 살충 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0008] 본 발명은 이산화염소를 살충 대상물에 처리하는 경우 활성산소를 유발함으로 살충대상물을 살균하는 효과가 발생함을 이용한 것으로, 살충 대상물의 항산화효소 분비를 억제함으로 이산화 염소의 살충효과를 극대화 시킬 수 있는 효과를 갖는다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1은 이산화염소(200 ppm)의 거짓쌀도둑거저리에 대한 치사 효과를 나타낸 그래프로, 도 1a는 노출 시간별 치사 효과를, 도 1b는 8 시간 노출 후 경과 시간별 치사 효과를 나타낸다.

도 2는 거짓쌀도둑거저리의 항산화효소 유전자 cDNA 염기서열 및 추정 아미노산 서열을 나타낸 것으로, 도 2a는 거짓쌀도둑거저리의 superoxide dismutase (SOD) 유전자의 염기서열과 아미노산 서열을 나타낸 것이며, 도 2b는 거짓쌀도둑거저리의 thioredoxin peroxidase (Trx) 유전자의 염기서열과 아미노산 서열을 나타낸 것이다.

도 3은 거짓쌀도둑거저리의 항산화효소인 superoxide dismutase (SOD)와 thioredoxin-peroxidase (Trx) 유전자를 동정하여 나타낸 유전자 계통분류도이다. 다른 종들의 상응 유전자들과의 높은 유사도를 나타내고 있다.

도 4는 거짓쌀도둑거저리의 스트레스 유전자 발현 패턴을 나타낸 것으로, 도 4a는 발육시기별 스트레스 유전자 발현 패턴을, 도 4b는 세균감염 후 스트레스 유전자 발현 패턴을 나타낸 것이다.

도 5는 이산화염소 처리(200 ppm, 8 h)에 따른 거짓쌀도둑거저리 유충의 스트레스 유전자 발현 패턴을 나타낸 것이다.

도 6은 RNA interference (RNAi) 기술을 이용한 거짓쌀도둑거저리의 항산화효소의 발현 억제효과를 나타낸 것으로, 도 6a는 특이적 dsRNA 주입 후 SOD와 Trx의 발현억제 효과로, 대조구로서 GFP 유전자에 대한 dsRNA 주입한 결과이며, 도 6b는 RNAi 처리 후 세균에 대한 감염 치사율 변화를 나타낸 것이다.

도 7은 RNA interference (RNAi) 기술을 이용한 거짓쌀도둑거저리의 항산화효소의 발현 억제에 따른 이산화염소 처리의 살충력 변화를 나타낸 그래프로, 특이적 dsRNA 주입 후 SOD와 Trx의 발현억제를 유도하고 대조구(dsCO N)로서 GFP 유전자에 대한 dsRNA를 주입하였다. 이산화염소 처리는 200 ppm에 8 시간 노출을 이용하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 본 발명은, 살충 대상물에 이산화염소를 처리하여 활성산소를 유발하는 것을 특징으로 하는, 살충 방법에 대한 것이다. 본 발명은 이산화염소를 살충 대상물에 처리하는 경우 활성산소를 유발함으로 살충대상물을 살균하는 효과가 발생함을 실험적으로 밝혀내어 완성된 것으로, 살충 대상물의 항산화효소 분비를 억제함으로 이산화 염소의 살충효과를 극대화 시킬 수 있는 효과를 갖는다. 즉, 이산화 염소의 처리로 인해서 활성산소가 증가하여 곤충에게 산화적 스트레스를 유발하게 되며, 이때, 곤충의 혈구세포가 이를 포획하며 세균과 함께 세포치사를 유발하게 된다.

[0012]

[0013] 상기 살충 대상물은 딱정벌레목에 속하는 곤충인 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 거저리과에 속하는 곤충일 수 있고, 가장 바람직하게는 거짓쌀도둑거저리의 곤충 또는 이의 유충 및 성충 등일 수 있다.

[0015]

상기 살충 대상물은 항산화효소의 분비가 억제된 것일 수 있다. 곤충 등의 살충 대상물은 활성산소를 적절하게 제거할 수 있는 항산화효소를 지니고 있으며, 이를 자체적으로 생성하거나 외부인자에 의해 발생되어 지나치게 많아진 활성산소의 활동을 억제할 수 있는데, 이러한 살충 대상물의 항산화효소의 분비를 억제하여 본 발명에 따른 이산화 염소의 살충효과를 극대화 시킬 수 있다.

[0017]

상기 항산화효소는 과산화물 제거효소(superoxide dismutase; SOD), 카탈라아제(catalase; CAT) 및 과산화효소(peroxidase; POX)에서 선택되는 하나 이상일 수 있으며, 과산화물 제거효소(superoxide dismutase; SOD) 또는 티오레독신-과산화효소(thioredoxin-peroxidase; Trx)일 수 있다.

- [0019] 구체적으로, 살충 대상물이 거릿쌀도둑거저리일 경우, 상기 과산화물 제거효소(superoxide dismutase; SOD)의 유전자는 도 2a는 뉴클레오타이드 서열과 아미노산 서열을 갖는 것일 수 있으며, 상기 티오레독신-과산화효소(thioredoxin-peroxidase; Trx)의 유전자는 도 1b의 뉴클레오타이드 서열과 아미노산 서열을 갖는 것일 수 있다.
- [0021] 또한, 살충 대상물이 거릿쌀도둑거저리일 경우, 상기 과산화물 제거효소(superoxide dismutase; SOD)의 유전자는 유전자 등록번호(GenBank accession number)가 KP342269인 것일 수 있으며, 상기 티오레독신-과산화효소(thioredoxin-peroxidase; Trx)의 유전자는 유전자 등록번호(GenBank accession number)가 KP342270인 것일 수 있다.
- [0023] 바람직하게는, 상기 살충 대상물은 항산화효소 유전자의 발현이 억제된 것일 수 있다. 이러한 살충 대상물의 항산화효소 유전자의 발현 억제는 RNAi(RNA interference)에 의한 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 항산화효소 유전자의 발현은 항산화효소 유전자에 특이적 double stranded RNA를 처리하여 억제될 수 있다. 바람직하게는 상기 억제는 RNAi(RNA interference)은 하기 프라이머를 이용하여 제조될 수 있다:
- [0024] AGTGCGCCCAATAATGCTATGC (Tc SOD FP);
- [0025] CGTGGGTAACTTGAGAGTGTTTC (Tc SOD RP);
- [0026] TGGATCCGGTCACTGAACGCCAG (Tc Trx FP);
- [0027] GACACCGGACGAGGAGTCGTGCCA (Tc Trx RP);
- [0028] TAATACGACTCACTATAGGGAGAAGTGCGCCCAATAATGCTATGC (Tc dsSOD FP);
- [0029] TAATACGACTCACTATAGGGAGACGTGGGTAACTTGAGAGTGTTTC (Tc dsSOD RP);
- [0030] TAATACGACTCACTATAGGGAGATGGATCCGGTCACTGAACGCCAG (Tc dsTrx FP);
- [0031] TAATACGACTCACTATAGGGAGAGACACCGGACGAGGAGTCGTGCCA (Tc dsTrx RP);
- [0032] TAATACGACTCACTATAGGGAGACAATACGGAGCTAGCGTTACG (Tc dsCON FP); 및
- [0033] TAATACGACTCACTATAGGGAGAGGTATGCTTCTCTGCATATGC (Tc dsCON RP) 중 하나 이상의 서열을 갖는 프라이머.
- [0035] 이하에서, 본 발명을 실시예에 기초하여 더욱 상세하게 설명한다. 그러나, 하기에 개시되는 본 발명의 실시 형태는 본 발명의 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위는 이들의 실시 형태에 한정되지 않는다. 본 발명의 범위는 특허청구범위에 표시되었고, 더욱이 특허청구범위 기록과 균등한 의미 및 범위 내에서의 모든 변경을 포함한다.
- [0037] <참조예>
- [0039] 1. 거릿쌀도둑거저리 사육
- [0040]
- [0041] 거릿쌀거저리(*Tribolium castaneum*)는 밀가루에 yeast extract (5%)를 혼합한 먹이로 25 ± 5℃에서 사육하였으며 유충과 성충을 대상으로 생물검정에 이용되었다.
- [0043] 2. 세균 배양 및 처리
- [0045] 시험에 사용된 그람음성 세균은 *Escherichia coli* Top 10으로 Invitrogen (Carlsbad, CA, USA)에서 구입하였다. 세균 처리는 각 거릿쌀도둑거저리 말령 유충 한 마리 당 4.0×10^4 의 세균을 미세주사기(World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA)를 이용하여 주입한 후 6, 12, 24, 48 시간 후에 유전자 발현 분석에 이용하였다. 대조구로서 세균을 회식시키는 데 사용한 100 mM phosphate buffer saline (PBS, pH 7.4)을 주입하였다.
- [0047] 3. SOD와 Trx 유전자 동정
- [0049] NCBI를 통해 거릿쌀도둑거저리의 항산화효소 유전자를 동정하기 위해서 누에(*Bombyx mori*)의 superoxide dismutase (SOD, NP001037084), thioredoxin peroxidase (Trx, AHK05704) 유전자를 탐색 query로 이용하였다. 이 두 유전자를 NCBI의 EST (expressed sequence tag) 데이터 베이스에 접속하여 거릿쌀도둑거저리 발현체에서

상동유전자들을 획득하였다. 각각의 유전자들은 이미 알려진 다른 곤충의 유전자들과 phylogenetic tree (Mega 6.0)를 이용하여 유사도를 분석하였다.

4. 이산화염소 처리

이산화염소는 전기분해 방식으로 제조하였다. 물에 녹여놓았다가 가스 형태로 혼증 시키는 것이기 때문에 농도 조절이 가능하였고 이를 아크릴판으로 특수 제작한 밀폐된 챔버에 가스 발생장치(푸르고팜, 화성시, 대한민국)을 이용하여 투여했다. 거짓쌀도둑거저리 개체는 9 cm 페트리디쉬에 현미와 함께 투여되었다. 이 용기의 윗면은 망사로 씌어 혼증제 처리가 가능하게 하였다. 이 곤충 용기를 이산화염소 처리 챔버에 넣고 처리 기간 동안 가스누출검지기(Gas leak detector C16, Analytical technology, Collegeville, PA, USA)로 이산화염소 농도를 지속적으로 모니터링해서 처리 농도를 확인했다. 일정 시간 처리 후 거짓쌀도둑거저리는 상온 실내환경으로 옮겨져 72시간 후 사망률을 조사하였다. 각 처리는 30 마리로 3 반복으로 실시하였다.

5. RNA 추출 및 cDNA 제조

각각의 처리된 거짓쌀도둑거저리 유충의 RNA 추출을 위하여 Trizol reagent (MRC, Cincinnati, OH, USA)를 이용하였다. First strand cDNA는 oligo dT primer가 들어간 RT-premix (Intron Biotechnology, Seoul, Korea)를 이용하여 제조사의 방법에 따라 합성하였다.

6. RT-PCR

총 2개의 거짓쌀도둑거저리 유전자를 RT-PCR 방법으로 처리에 따른 발현 여부를 분석하였다. 각 처리 후 처리 개체의 RNA 추출 및 cDNA 제조는 상기의 방법을 따랐다. PCR 조건은 94℃에서 1 분간 변성시킨 후, 각 유전자 특이적 재생 온도에서 30 초, 그리고 Taq 중합효소의 사슬 연장을 72℃에 1 분간하여 40 회 주기로 반응시켰다. 이 실험에 사용된 primer는 하기 표 1에 나타났다.

표 1

프라이머 이름	서열
Tc SOD FP	AGTGCGCCCAATAATGCTATGC
Tc SOD RP	CGTGGGTAACTTGAGAGTGTTT
Tc Trx FP	TGGATCCGGTCACTGAACGCCAG
Tc Trx RP	GACACCGGACGAGGAGTCGTGCCA
Tc dsSOD FP	TAATACGACTCACTATAGGGAGAAGTGCGCCCAATAATGCTATGC
Tc dsSOD RP	TAATACGACTCACTATAGGGAGACGTGGGTAACTTGAGAGTGTTT
Tc dsTrx FP	TAATACGACTCACTATAGGGAGATGGATCCGGTCACTGAACGCCAG
Tc dsTrx RP	TAATACGACTCACTATAGGGAGAGACACCGGACGAGGAGTCGTGCCA
Tc dsCON FP	TAATACGACTCACTATAGGGAGACAATCGGAGCTAGCGTTACG
Tc dsCON RP	TAATACGACTCACTATAGGGAGAGGTATGCTTCTTGCATATGC

7. RNA interference (RNAi)

SOD와 Trx 유전자의 발현을 억제하기 위해 RNAi 기술을 이용하였으며 이는 dsRNA를 이용한 것으로 표 1에 있는 특이적 프라이머를 이용하였다. RNAi는 Megascript RNAi kit (Ambion, TX, USA)의 방법에 따라 시행하였다. dsRNA의 크기는 약 200 bp이었으며 sense와 antisense 가닥을 T7 RNA polymerase에 의해 합성하였다. 유전자 발현을 억제하기 위해 dsRNA 시료에 Metafectene PRO reagent (Biontex, Planegg, Germany)에 섞은 후 37℃에서 1 시간 동안 반응시킨 후 사용하였다. dsRNA는 각 유충 당 250 ng를 처리하였으며 처리 방법은 세균 처리에서 언급된 방법과 같다. 상기의 dsRNA가 처리된 거짓쌀도둑거저리는 24 시간 후 200 ppm의 이산화염소에 8 시간 처리한 후 72 시간 후 살충율을 분석하였다. 각 처리는 10 마리씩 3 반복으로 실시하였다. dsRNA의 대조구로서 CpBV-ORF302 유전자를 이용하였다.

8. 통계 분석

살충률 결과는 백분율 자료로 arcsine 변환 후 SAS의 PROC GLM (SAS Institute, 1989)을 이용하여 분석 및 비교하였다. 또한 DUNCAN 방법으로 처리간 비교를 실시하였다.

<실시예>

[0074] **실시예 1: 거짓쌀도독거저리의 SOD와 Trx 유전자 동정**

[0076] 거짓쌀도독거저리의 발현 유전체를 NCBI 검색엔진으로 찾고자 기존에 알려진 SOD와 Trx 유전자를 누에나방에서 획득하였다. 이를 이용하여 거짓쌀도독거저리의 SOD와 Trx 유전자를 각각 동정하였다. SOD의 염기 서열과 아미노산 서열은 도 2a에 나타낸 바와 같다. Trx의 염기 서열과 아미노산 서열은 도 2b에 나타낸 바와 같다. 각각의 유전자들은 다른 종들의 상응 유전자들과 높은 유사도를 나타냈다(도 3).

[0078] **<비교 실험예 및 실험예>**

[0080] **실험예 1: 이산화염소의 거짓쌀도독거저리에 대한 독성 효과 평가**

[0082] 일정 농도(200 ppm)의 이산화염소를 처리한 결과 노출 시간에 따라 거짓쌀도독거저리의 유충과 성충의 사망률이 증가하였다(도 1a). 이산화염소 처리 후 경과 시간별로 사망률을 분석하여 보면, 최초 사망 개체는 12 시간 이후 나타나서 72 시간 경과 후 최대 사망률을 나타냈다(도 1b). 따라서 이산화염소 노출 이후 거짓쌀도독거저리 유충의 사망까지는 일정 시간이 소요되었다.

[0084] **비교 실험예 1: 세균의 침입으로 인한 유전자 발현 변화 평가**

[0086] 세균 감염은 곤충 체내의 면역반응의 일환으로 감염 곤충이 활성산소를 유발한다. 이러한 산화적 스트레스에 대한 거짓쌀도독거저리의 스트레스 유전자 발현을 분석했다(도 4). 세균을 처리하지 않은 유충, 번데기, 성충에서 스트레스 유전자들의 발현량을 확인하였을 때 항산화효소 유전자인 SOD, Trx의 발현은 일정하였다(도 4a). 또한 세균처리 후 유충에서 발현량을 확인하였을 때 항산화효소인 SOD와 Trx 유전자의 발현이 24 시간 후에 유도되는 것을 확인하였다(도 4b).

[0088] **실험예 2: 이산화염소 처리로 인한 항산화 효소 발현 평가**

[0090] 이산화염소를 거짓쌀도독거저리의 유충에 0, 2, 6, 12, 24 시간 동안 처리하였을 때 항산화효소 발현량 같은 경우는 세균 처리 때와 비교하였을 때 훨씬 빠른 시간대에 발현량이 급격히 증가되는 것을 확인하였다(도 5).

[0092] **실험예 3: 항산화효소 발현억제와 이산화염소 살충력 증가 평가**

[0094] SOD와 Trx의 유전자 발현 억제를 각각의 dsRNA 주입을 통해 실시하였다(도 6). 각각의 유전자 발현이 억제되는 것을 RT-PCR을 통해 확인하였다(도 6a). 대조구로서 세균 단독 처리, dsRNA 단독 처리, 또는 이들의 합동처리는 거짓쌀도독거저리에 뚜렷한 치사 효과를 주지 않았다. 그러나 SOD와 Trx 유전자 발현을 억제시킨 후 세균 처리하였을 때 현격하게 높은 치사율을 보였다(도 6b).

[0096] **실험예 4: 항산화효소 발현억제와 이산화염소 살충력 증가 평가**

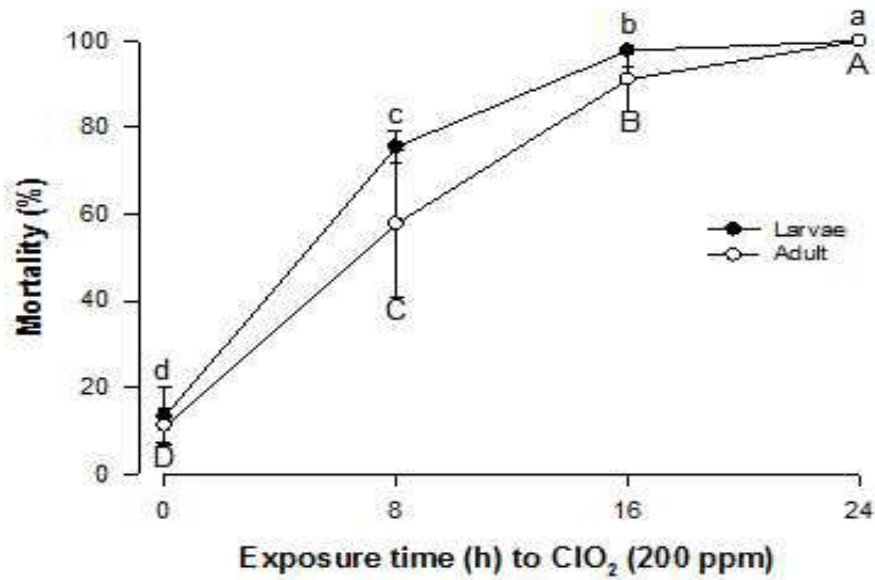
[0098] 특이적 dsRNA를 주입하여 거짓쌀도독거저리의 SOD와 Trx 유전자 발현을 각각 억제시켰다. 이러한 조건 속에 이산화염소를 200 ppm으로 8 시간 처리한 후 대조구와 살충력을 비교한 결과 이들 효소의 발현 억제가 이산화염소의 살충력을 현격하게 증가시켰다(도 7).

[0100] 상기 실험결과를 통해, 이산화 염소(ClO_2) 처리로 인해서 곤충에게 활성산소가 유발되며, 산화적 스트레스를 유발하게 함을 확인할 수 있다. 이산화 염소(ClO_2) 처리에 의한 산화적 스트레스에 의해, 곤충의 혈구세포가 이를 포획하며 세균과 함께 세포치사를 유발하게 된다.

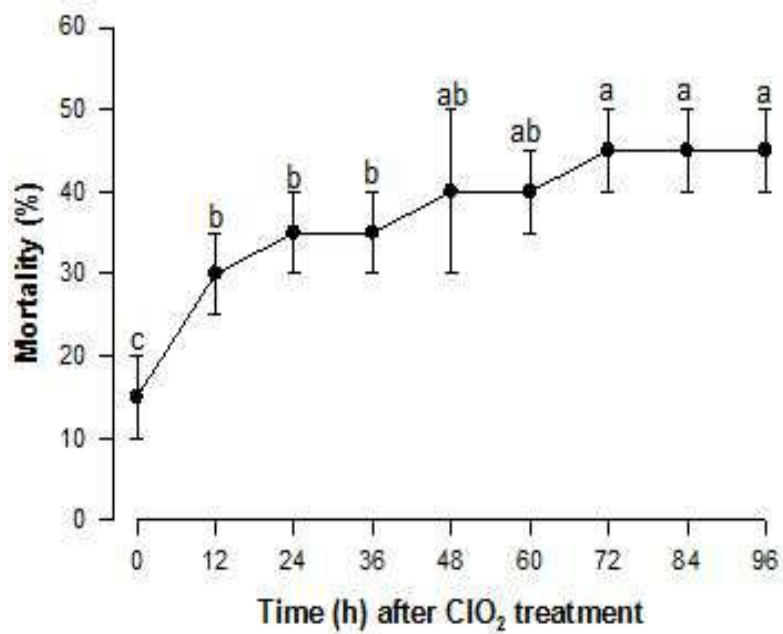
[0101] 즉, 이산화염소와 산화적스트레스 사이에 살충작용이라는 기능적 관계를, RNA interference 기술을 이용하여 항산화효소의 발현 억제를 유도하고 살충 효과의 변화를 분석함으로써 확인할 수 있었다.

도면

도면1a



도면1b



도면2a

Tc-SOD (GenBank accession number: KP342269)

[DNA] – 682 bp

CGGACGCGTGGGTAAACCTTGAGAGTGTTCAATTGAACCGTATTTTTCGTTAAA-
 GAAGTATTAAACCAGACATTCCGCTCCGTTTGACTACATTGGAACAAA[ATG]CCGACGAAAGC
 AGTTTGTGTCTAAACGGCGAAGTTAAGGGGACCATTTTCTTCACACAAGAAAATGGTAAA-
 GCCCCGGTGCAAGTCACCGCGAGGTGAGTGGGCTCAAGAAGGGGCTGCATGGGTTCATAT
 CCACGAGTTTGGGGATAATACCAATGGGTGCATTTCGGCTGGGGCCAC-
 TTCAACCCCCATGGAAGGATCATGGAGGGCCACCCATGACGTACGTCATGTGGGGGATTT
 GGGGAATATCGAAGCCGGGGGTGATGGAGTTGCCAAAGTTGGTATTACTGA-
 TAAGTTTATCTCGTTGGAAGGGGAGCATAGCATTATTGGGCGCACTTTAGTGGTTCATGCCG
 ATCCGGATGATTTGGGACAAGGGGGCCATGAATTGAGCAAGAC-
 TACAGGAATGCTGGCGCTCGTTTGGCGTGTGGTGTGTTGGAATCACTAAAGCT[TAA]GTTT
 TTTTTTGGTTGGAGTTGTTTTTTTTTGGCTTTAATTTCAAGTTAAATACGAAATAATTTT-
 GTAGTGGATGGTGAAAGAATAAACTATTAAGGGTTTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAA

[Amino acid] – 153 residues

MPKAVCVLNGEVKGTIFFTQENGKAPVQVTGEVSGLLKGLHGFHIHEFGDNT-
 NGCISAGAHFNPHGKDHGGPTHVVRHVGDLGNI EAGGDGVAKVGITDKFISLEGEHSIIGR
 LVVHADPDDLGGGHELSKTTGNAGARLACGVVGITKA

도면2b

Tc-Trx (GenBank accession number: KP342270)

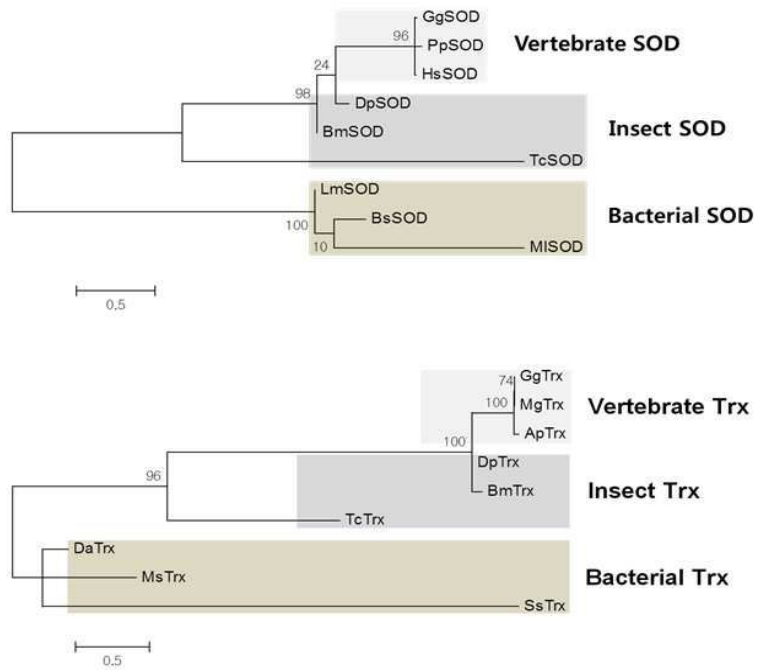
[DNA] - 879 bp

ACGTTGCAAAGTACCTAGAAAATGCGCGATTTGTGATTTTTCGCTCGTGTGTGAG-
 TCCTAGTTCGGGGGGGACACCGGACGAGGAGTCGTGCCATAGGTT[GG]GGCCGCCACGGTGT
 ACCCCTGGGGGTGACCCCAAGAAGTCTGAGCATAAGTTACAGTGGACGCAA-
 GCTGTCTATCTCAAACCGGCCCTTTTGGGAGAGCACGGCTGTGGTCGACGGGGAGTTTGT
 TCAGTTGAAATCCACCGATTTTGGGGAAGTATTTAGTGTCTTTTTTACCCCTTGAT-
 TTTACTTTTGTGTGCCCCACTGAAATCTGGCGTTCAGTGACCGGATCCAAGAATTCGCGA
 TATTAATACGGAGTTGTTGCCTGTTGAGTTGATTCGCATTTTACTCATCTTGCTGGAT-
 TAACACGCCTAGGAAAGAGGGGCTGGGAAAGTCAAATTCGCTTTTGTGCGGACTGGA
 GTCATAGCATATCCAAGTCATATGGCGTGTTTTGGAGGATTTAGGACACAC-
 TCTTAGGGGCTTATTTATTATAGACACTAAAGGAGTGCTAAGGCAAATCACTATGAATGATT
 TGCCGGTTGGCAGAAGTGTTGATGAACTTTAAGACTGGTTCAAGCCTTCCAATACACCGA-
 TAAACATGGAGAAGTGTCCTGCGGAGTGAAACCCGGCCAGGATACAATAATACCTAATC
 CAATTGAGAAGAAGAAATTTTGGAGAAACAC-
 [TAA]TCATCACAAAATCAAATGCATCATCAAAATAATACTTTTTTATTGACATCACTTGATA
 AATAAAAAGAACGAAAAGCGAACCATAAATAAAATTTACAA-
 TAAGTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

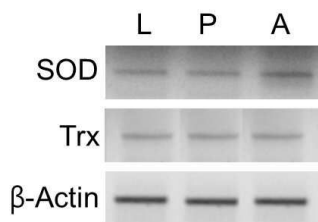
[Amino acid] – 215 residues

WGRHGVPPGGDPKKSEHKLQWTQAVISKPAFWESTAVVDGEFVQLKSTDFLGKYLVEFFY-
 PLDFTFVCPTEILAFSDRIQEFRDINTEVVACSVDSHFTHLAWINTPRKEGGLGKVKIPLLS
 DWSHSISKSYGVFLEDLGHTRLGLFI-
 IDTKGVLRQITMNDLPVGRSVDETLRLVQAFQYTDKHGEVCPAEWKPGQDTIIPNPIEKKKY
 FEKH

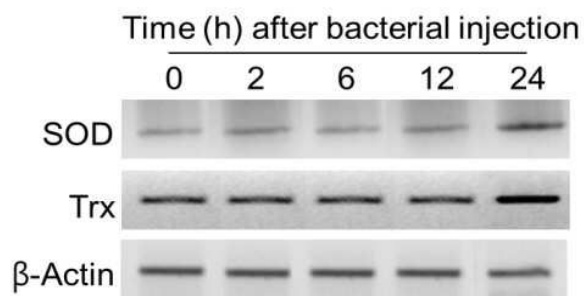
도면3



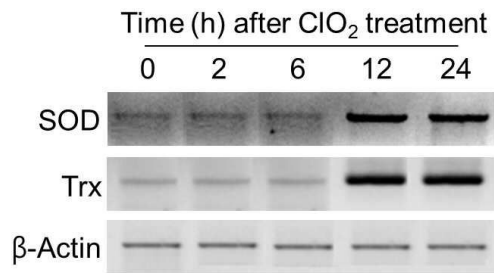
도면4a



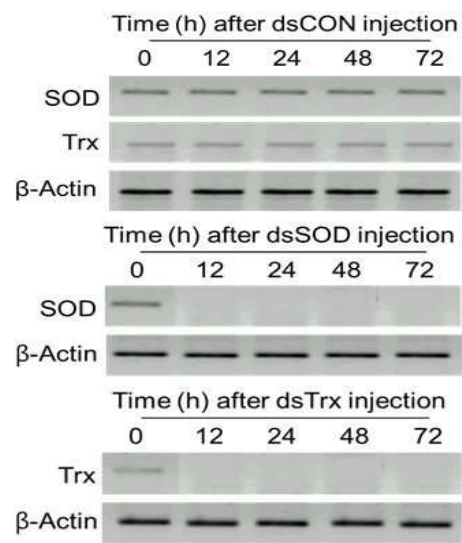
도면4b



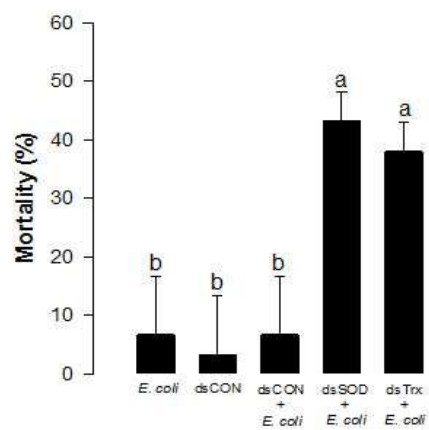
도면5



도면6a



도면6b



도면7

