害虫遗传防控技术的研究与应用

徐雪娇^{1,2,3}, 何玮毅^{1,2,3}, 杨婕^{1,2,3}, 陈玮^{1,2,3}, 尤民生^{1,2,3*}

1. 福建农林大学, 闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 福州 350002;

2. 福建农林大学应用生态研究所, 福州 350002;

3. 福建农林大学, 教育部害虫生态防控国际合作联合实验室, 福州 350002

* 联系人, E-mail: msyou@fafu.edu.cn

收稿日期: 2019-01-05; 接受日期: 2019-02-03; 网络版发表日期: 2019-05-17

国家自然科学基金(批准号: 31320103922, 31230061)资助

摘要 遗传防控技术作为传统有害生物防控方式的替代策略, 自20世纪50年代以来在世界各国受到广泛的关注, 被认为是一类有利于人类健康、食品安全和农业可持续发展的害虫种群防控技术, 同时也为日益严峻的生物入侵问题提供了解决方案. 本文综述了不育昆虫技术(sterile insect technique, SIT)、释放携带显性致死基因昆虫技术(release of insects carrying a dominant lethal, RIDL)和基因驱动技术(gene drive)的基本原理及部分应用案例, 比较了不同技术的优势与限制因素, 并介绍了相关研究中常见的几种基因整合策略, 以期进一步改进害虫综合治理的基础研究和技术研发.

关键词 遗传防控, 不育昆虫技术, 释放携带显性致死基因昆虫技术, 基因驱动技术

现代农业为保证农作物的产量, 生产上经常出现盲目用药和使用禁用农药的现象. 化学杀虫剂的大量不合理使用, 给人类自身的健康带来威胁, 也使很多害虫产生严重的抗药性(resistance), 引发再猖獗(resurgence)和其他次要害虫暴发, 导致许多作物产区陷入农药越用越多、虫害愈演愈烈的恶性循环^[1,2], 同时, 农药残留(residue)引起了污染土壤和水资源、破坏农业生物多样性等一系列的生态、环境和社会问题. 因此, 寻求安全、有效、持续控制害虫的途径和方法, 不仅有利于减少化学农药的使用, 而且有利于提高作物的产量和品质, 促进农业生产的持续和健康发展.

害虫遗传防控技术就是其中一种受到广泛关注的

替代策略, 即利用昆虫的交配行为, 将某些特定的性状引入到野生种群中. 如果靶标基因是对虫体生长发育或者生殖调控至关重要的基因, 就会导致害虫种群数量的减少甚至灭亡. 与化学防治策略相比, 经过遗传改造的昆虫只会与同一物种的昆虫交配, 因此其遗传控制的对象仅限于靶标昆虫, 避免了对非靶标物种和生态环境的危害. 这些遗传改造的昆虫在被释放到野外后能够主动寻找目标配偶, 这也弥补了传统害虫防控技术在时间、空间上难以遍及种群中所有个体的不足. 随着基因工程技术的发展, 从简单的基因扰乱到更为精准的基因编辑技术, 也为害虫遗传防控提供了新思路^[3,4]. 本文详细介绍几种研究较为广泛的害虫遗传

引用格式: 徐雪娇, 何玮毅, 杨婕, 等. 害虫遗传防控技术的研究与应用. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 938–950

Xu X J, He W Y, Yang J, et al. Research and applications of genetics-based methods for pest control (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 938–950, doi: 10.1360/N052018-00256

防控技术, 包括不育昆虫技术(sterile insect technique, SIT)、释放携带显性致死基因昆虫技术(release of insects carrying a dominant lethal, RIDL)和基因驱动技术(gene drive)的基本原理及部分应用案例, 以及在这些技术的相关研究中常见的几种基因整合策略.

1 不育昆虫技术

最初被报道的害虫遗传防控工具是不育昆虫技术. 传统的SIT被认为是一种害虫生物防治技术, 并作为区域有害生物综合防治(area-wide integrated pest management, AW-IPM)的重要方法, 属于环境友好型的害虫防控技术^[5,6]. 其基本原理是通过特定射线的物理辐照或者化学不育剂等处理导致染色体畸变或其他显性致死突变, 使昆虫的生殖能力被削弱从而无法产生健康后代, 再将这些不育昆虫释放到靶标种群中, 进而减少害虫种群数量^[3].

该技术最早被应用于防治新大陆螺旋蝇(New World screwworm, *Cochliomyia hominivorax*), 是一种在西半球亚热带和热带地区造成严重危害的人畜害虫. 从20世纪70年代开始, 美国、墨西哥、危地马拉、洪都拉斯、萨尔瓦多、尼加拉瓜、哥斯达黎加、巴拿马等国先后使用SIT技术防治新大陆螺旋蝇, 并几乎在所有使用该技术的国家都消灭了这一重要害虫^[7,8]. 然而在消灭蝇蛆一段时间后, 来自其他地区的螺旋蝇再次侵入这些国家, 导致虫害再次发生. 尽管再次使用不育昆虫仍能达到消灭侵入种群的效果, 但人类活动、动物迁徙、交通运输和检疫缺失等因素依然可能带来螺旋蝇侵入的隐患^[9]. 同样是在20世纪70年代初, 由于淡色按蚊*Anopheles albimanus*在萨尔瓦多产生严重的杀虫剂抗性, 传统的防治方式难有成效, 因此研究人员采用SIT策略, 利用化学药剂处理按蚊使其不育, 再筛选出雄蚊释放到野外, 最终有效抑制了按蚊种群的扩增^[3].

该技术经过60多年的研究与实践, 已成为一种较为成熟的遗传防治工具, 并在南美等地被应用于包括双翅目、鳞翅目和鞘翅目在内的多种有害昆虫的防治. 然而该技术存在的两大问题限制了它的应用潜能: 一是不育处理对于昆虫个体会造成较大的适合度代价, 使其难以与野生种群竞争交配, 并且这些不育昆虫在野外难以经过多世代长久保留下来, 如果存在剩余

的害虫或有新的虫源迁入, 仍有再次暴发为害的可能. 因此需要大量并多次释放不育昆虫才能达到期望的种群抑制作用, 这也就意味着需要较高的生产和应用成本. 此外, 现有的不育处理方法并不适用于所有的害虫物种, 如鳞翅目昆虫对于物理辐照就具有更强的抗性^[10]. 二是只能释放单一性别的不育昆虫, 释放前需要对不育昆虫进行雌雄性别筛选. 如果同时释放两种性别的不育昆虫, 将会导致不育昆虫之间互相交配, 降低其与野生异性交配的概率. 已有研究表明, 只释放一种性别的不育昆虫比同时释放两种性别不育昆虫的种群抑制效率更高^[11]. 特别是对于某些雌性个体会对人、畜或农作物造成危害的昆虫(如蚊子), 更应该严格筛选. 但是在不育昆虫大规模生产过程中的性别筛选方法仍然存在一定的假阳性, 这在一定程度上也削弱了该技术抑制野生害虫种群的效果(表1).

2 释放携带显性致死基因昆虫技术

考虑到SIT技术及其应用的局限性, 研究人员利用包括合成生物学在内的方法改造传统的SIT技术, 在降低基因修饰造成的昆虫适合度代价的同时, 大大便利了性别筛选的过程. 其中一种改进策略就是将致死基因引入昆虫基因组中, 并在虫体内条件性表达, 即释放携带显性致死基因昆虫技术. RIDL与SIT技术最大的区别在于SIT仅利用物理或化学处理破坏昆虫基因组, 而RIDL则是通过基因插入获得遗传转化的昆虫材料, 但二者达到控制和消灭害虫种群的目的是一致的.

最常见的RIDL遗传调控系统是基于Tet-off系统调控致死基因的表达, 实现靶标昆虫特异性致死. Tet-off系统主要由转录激活因子tTA(tetracycline-repressible transcriptional activator)(或经密码子突变改造优化的tTAV)及其响应元件tetO(tetracycline operator)两部分构成. 特定启动子表达的tTA能够绑定在tetO元件上, 增强下游效应基因的表达. 当下游的效应基因是tTA时, 就能形成一个正向反馈循环(positive feedback loop)系统, 不断积累tTA造成毒害作用, 这也被称为单元件系统(图1A). 此外, 下游效应基因也可以是其他细胞凋亡基因(如*hid*)和*Nippl*(I型蛋白磷酸酶抑制剂)基因等, 系统既表达tTA也表达其他效应基因, 因此被称为双元件系统^[20](图1B和C), 表达这些基因会对虫体造成较大的适合度代价甚至导致死亡. 而四环素(tetra-

表 1 不同昆虫物种中的SIT技术应用案例

Table 1 Examples of SIT application using different insect species

类别	物种	国家或地区	参考文献
双翅目(Diptera)	新大陆螺旋蝇(<i>Cochliomyia hominivorax</i>)	中北美洲(Central and North America)	[9,12]
	地中海实蝇(<i>Ceratitis capitata</i>)	拉丁美洲(Latin America)	[11,13]
	瓜实蝇(<i>Bactrocera cucurbitae</i>)	日本冲绳(Okinawa, Japan)	[14]
	淡色按蚊(<i>A. albimanus</i>)	萨尔瓦多(El Salvador)	[15]
	埃及伊蚊(<i>Aedes aegypti</i>)	美国、印度、肯尼亚(USA, India, Kenya)	[16]
鳞翅目(Lepidoptera)	画苹果蛾(<i>Teia anartoides</i>)	新西兰(New Zealand)	[14]
	棉红铃虫(<i>Pectinophora gossypiella</i>)	美国、墨西哥(USA/Mexico)	[17]
	苹果蠹蛾(<i>Cydia pomonella</i>)	加拿大英属哥伦比亚(British Columbia, Canada)	[18]
鞘翅目(Coleoptera)	西印度甘薯象甲(<i>Euscepes postfasciatus</i>)	日本琉球群岛(Ryukyu Islands, Japan)	[19]
	甘薯象甲(<i>Cylas formicarius</i>)

图 1 基于“tet-off”系统的不同RIDL结构示例图. A: 由性别特异可变剪接调控tTA表达的单元件RIDL系统. B: 由性别特异可变剪接控制tTA表达的双元件RIDL系统. C: 由组织/时间/性别特异表达的启动子驱动tTA表达的双元件RIDL系统. tTA与tetO结合促进下游效应基因的表达

Figure 1 Diagram of RIDL constructs based on “tet-off” system. A: Expression of tTA is regulated by sex-specific alternative splicing in a one-component RIDL system. B: Expression of tTA is regulated by sex-specific alternative splicing in a two- component RIDL system. C: tTA is driven by a tissue/time/sex-specific promoter. tTA binds with tetO to activate the downstream effector gene

cycline, Tc)及其类似物(如氯四环素chlortetracycline, CTC)也能够结合tetO元件, 因此它们又被称为解毒剂(antidote)——即当Tc存在时, tTA无法结合tetO, 也就不会激活下游效应基因的表达. 通过在食物中添加Tc

能够维持RIDL品系昆虫的正常存活, 但当将其释放至野外, 在无Tc环境下, 携带致死基因的虫体就会死亡. 在这些RIDL昆虫死亡之前, 它们能够经过与野生型异性交配从而将致死基因遗传给后代, 使后代也无法存活.

鉴于释放单性别不育昆虫的高效性, 研究人员更希望开发雌性不育的RIDL系统(female-specific RIDL, fsRIDL), 而不是释放两性RIDL(biRIDL)昆虫. 这可以通过性别特异表达的启动子或者利用某些基因的雌雄可变剪接体(如*Actin-4*, *dsx*和*tra*基因等)融合致死基因, 以实现致死基因的性别特异性表达^[21](图1).

由于埃及伊蚊*Aedes aegypti*雌雄虫在*Actin-4*基因的5'UTR区具有不同的剪接体, Fu等人^[22]利用该基因的启动子连接雌雄特异可变剪接体指导tTAV基因的表达, 在缺乏四环素的条件下, tTAV结合四环素响应元件tRE(tetracycline response element)——tRE包含有多个tetO元件——并驱动显性致死基因VP16的表达, 特异性地造成雌虫无法飞行(female-specific flightless), 从而失去飞离水体、觅食、寻找配偶及交配的能力. 随后, Wise de Valdez等人^[23]的研究表明, 周期性地释放这一转基因品系能够在笼中消灭野生型种群, 验证了fsRIDL技术在室内试验中的高效性. 同样是针对双翅目害虫, Labbé等人^[21]也验证了该雌雄特异表达策略以及Tet-off系统在白纹伊蚊*Aedes albopictus*中的可行性.

由于缺乏有效的性别筛选工具, 采用SIT技术培育的不育新大陆螺旋蝇在释放到野外时只能是两种性别

同时释放, 降低了种群抑制的效率. Concha等人^[24]希望通过培育携带fsRIDL雌性特异致死系统的雄性螺旋蝇来替代SIT技术, 为新大陆螺旋蝇灭绝项目(The New World Screwworm Eradication Program)提供更加高效的工具. 他们首先建立了多个Tet-off系统控制的雌虫特异致死品系, 分析了转基因雄虫的适合度并筛选出了最适品系. 同时他们也检测了其来自不同基因背景野生种群雌虫的交配成功率, 结果表明, 基因差异可能会影响雌性致死程度. 田间释放RIDL转基因昆虫, 最大的风险是改造的基因通过杂交在相近物种之间发生基因漂流. 为评估这一可能的风险, Concha等人在室内实验中将转基因新大陆螺旋蝇雄虫与亲缘关系最近的野生型二级螺旋蝇*Cochliomyia macellaria*雌虫进行交配, 但未观察到成功的交配行为, 表明了田间释放RIDL转基因昆虫用于害虫种群防治的潜在可行性.

同样在油橄榄果实蝇*Bactrocera oleae*中, 研究人员也获得了受Tet-off系统调控的雌虫特异致死品系. 由于油橄榄果实蝇是多次交配性昆虫, 如果野生雌虫的第一次交配对象是突变雄虫而第二次交配对象是野生雄虫, 则RIDL技术的控害效果就会被大大削弱. 为检测野生雌虫在多次交配中对野生和突变雄虫的选择是否有差异, Ant等人^[25]设计并实施了交配竞争和再交配实验. 实验结果验证了转基因雄虫和野生型雄虫在交配竞争力与再交配能力上并没有显著差异. 随后, 他们的室内笼中实验结果也表明, 周期性释放携带雌性致死基因的雄虫能够有效地抑制野生种群. 释放RIDL转基因昆虫是否会对非靶标昆虫造成负面影响, 也是在实际应用过程中需要考虑的问题. Marubbi等人^[26]的研究结果显示, 寄生或取食油橄榄果实蝇OX3097D-Bol品系的三种天敌昆虫并没有受到显著的有害影响.

采用物种间保守的基因构建转化质粒, 能够使该系统应用于不同物种, 但应用效果可能存在差异. 2013年, Jin等人^[27]发表的研究文章显示, 利用*dsx*基因的雌雄可变剪接体构建质粒OX4135和OX4319转化到棉红铃虫*Pectinophora gossypiella*体内, 在从饲料中移除氯四环素以后, 只有雄性棉红铃虫能够存活至成虫, 而雌虫多在幼虫早期死亡. 再将同一质粒(OX4319)转化小菜蛾*Plutella xylostella*, 只有部分转化品系能够达到同样的效果, 这一结果的差异可能是由基因插入的

“位置效应(position effect)”导致的. 在温室罩笼实验中, 大量释放经OX4319转化的小菜蛾品系OX4319L能够控制甚至灭绝野生种群, 并且释放这一小菜蛾品系有利于延缓野生种群对Bt毒素的抗性形成^[28]. 考虑到家蚕雄虫的产丝质量及适合度均优于雌虫, 建立高效的雄虫筛选体系有利于提高经济效益, Tan等人^[29]成功建立了雌性特异致死的OX4319家蚕品系, 这也拓展了fsRIDL技术在其他研究领域的应用.

转基因生物具有潜在的生物安全风险, 在将基于RIDL技术的转基因昆虫释放到野外之前, 需要严谨且丰富的科学实验验证以及国家政策的支持; 在进行科学实验时, 需要由点及面、从部分离岸岛屿到陆地水平, 逐步进行转基因品系昆虫的风险评估与控害效果监测. 目前已有部分RIDL昆虫被应用于小范围的区域水平试验, 例如埃及伊蚊OX513A品系在开曼群岛、巴西部分地区以及马来西亚的释放都取得了较好的效果^[30,31](表2). 此外, 在经过初步的田间罩笼试验后, 小菜蛾OX4319L品系的进一步田间小范围试验目前正在康奈尔大学试验田中进行, 以评估该转基因品系的田间实际种群控害效果(<http://shelton.entomology.cornell.edu/2017/07/13/2015-diamondback-moth-field-cage-trials/>; <https://shelton.entomology.cornell.edu/diamondbackmoth/diamondback-moth-project-at-cornell-university-faq/>).

3 基因驱动技术

不论是SIT还是RIDL技术, 采用的都是自我限定型(self-limiting)的种群控制策略. 这种策略在种群水平能够起到有效的抑制作用, 所释放的遗传改造昆虫可将突变基因遗传给下一代(遵循孟德尔遗传定律), 也会随着时间推移而消失, 因此就需要周期性地释放基因改造昆虫到野生种群中以维持抑制效果. 于是研究人员又提出能够在种群中自我维持型(self-sustaining)的其他策略, 包括基于沃尔巴克氏菌*Wolbachia*胞质不亲和作用的种群改造策略、显性不足基因(underdominance gene)或者归巢内切酶基因(homing endonuclease genes, HEGs)介导的基因驱动(gene drive)策略等^[4]. 相对于自我限定型策略而言, 自我维持型策略显示出更强的侵入性, 能够达到种群甚至物种改造的目的. 其中, 基因驱动是指某些特定基因型或特定性状

表 2 不同昆虫物种中的RIDL技术应用案例

Table 2 Examples of RIDL application using different insect species

类别	物种	研究内容	参考文献
双翅目(Diptera)	新大陆螺旋蝇(<i>Cochliomyia hominivorax</i>)	fsRIDL	[24]
	油橄榄果实蝇(<i>Bactrocera oleae</i>)	利用 <i>tra</i> 基因的雌雄可变剪接体驱动致死基因 <i>tTAV</i> 的表达, 造成雌虫特异致死	[25,26]
	地中海实蝇(<i>Ceratitis capitata</i>)		[32]
	埃及伊蚊(<i>Aedes aegypti</i>)	fsRIDL	[22,23]
	白纹伊蚊(<i>Aedes albopictus</i>)	利用 <i>Actin-4</i> 基因的启动子及其雌雄特异可变剪接体驱动致死基因VP16的表达, 造成雌虫特异无法飞行	[21]
鳞翅目(Lepidoptera)	棉红铃虫(<i>Pectinophora gossypiella</i>)	fsRIDL	[27,28]
	小菜蛾(<i>Plutella xylostella</i>)	利用 <i>dsx</i> 基因的雌雄特异可变剪接体驱动致死基因 <i>tTAV</i> 表达, 造成雌虫特异致死	[29]
	家蚕(<i>Bombyx mori</i>)		

在种群中被有偏好性地遗传给后代的现象^[4], 这一过程也被称为超孟德尔遗传(super-Mendelian inheritance). 自然界中有某些基因的遗传就存在这种现象. 2003年, Burt^[33]首次提出了利用位点特异性核酸酶基因构建合成基因驱动系统, 用于将特殊性状扩散到种群中. 由于近年来新兴的转录激活子样效应因子核酸酶(transcription activator-like effector nucleases, TALENs)、锌指核糖核酸酶(Zinc finger nucleases, ZFNs)和规律成簇间隔短回文重复(clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)等基因编辑技术在动植物基因编辑中的广泛应用, 研究人员也尝试将这些技术运用到基因驱动系统的构建中. 目前已见报道的基因驱动系统主要包括全面基因驱动及其他改良版本的驱动模式.

3.1 全面基因驱动

全面基因驱动(global gene drive)是通过自催化突变, 在个体中实现从杂合突变向纯合突变的转换, 因而只需要引入少量的初始基因改造昆虫, 就能够将突变扩散到整个种群中. 这种自我维持策略理论上能够使所改造的性状(如与生殖相关的特性)在种群中永久保留下来, 持续地抑制甚至消灭田间害虫种群^[34,35]. 该系统能够采用包括ZFNs, TALENs^[36], CRISPR/Cas9^[37]以及其他归巢内切酶基因HEGs(如*I-SceI*)^[38]在内的基因编辑策略. 最早提出的是基于HEGs的基因驱动系统^[33]. HEGs是一类能够识别较长特异序列的核酸内切酶, 只要基因组中有完整的识别序列就能够切割并将HEGs编码序列整合到切割位点处. 已整合HEGs编

码序列的染色体中的识别序列被破坏, 就不会再被切割, 但另一条完整的同源染色体序列就能够被识别、切割并以整合HEGs的染色体为模板进行修复, 从而使两条同源染色体都带上HEGs编码序列. 这一过程被称为“归巢(homing)”^[33]. 任何具有较长识别序列的核酸酶其实都能够被用于构建类似HEG的基因驱动系统^[35]. 由于CIRSPR/Cas9技术具有强大而便捷的基因编辑能力, Esvelt等人^[39]于2014年提出了基于该技术的基因驱动系统的理论模型, 随后研究人员分别在酿酒酵母*Saccharomyces cerevisiae*、黑腹果蝇*D. melanogaster*、斯氏按蚊*Anopheles stephensi*以及冈比亚按蚊*A. gambiae*中成功建立了相关动物模型并检测了各自的驱动效率^[34,35,37,40]. 虽然基于CRISPR技术的基因驱动与HEGs介导的驱动具有相似的作用机制(图2), 但HEGs要求基因组中具有特异的酶切位点, 而CRISPR介导的基因驱动只需要编辑sgRNAs(single guide RNAs)就能够绑定并切割任何具有PAM结构的位点, 这就大大拓展了这一系统的应用范围.

如果所选择的靶标位点是对雌性生殖或生长发育具有重要作用的基因, 就能够特异地杀死雌性后代或使其不育, 最终导致种群因性别比例失调而灭绝. Hammond等人^[35]在冈比亚按蚊中选择了三个隐性雌性不育基因(*AGAP005958*, *AGAP011377*和*AGAP007280*)并分别构建了基因驱动系统, 其转化效率高达91.4%~99.6%, 这一研究成果为彻底消灭疟疾传播媒介冈比亚按蚊提供了高效的遗传防控工具. 除此之外, Grunwald等人^[41]在小鼠*Mus musculus*中也成功建立了雌性特异的基因驱动系统模型, 虽然相对于

图 2 基因驱动昆虫在种群中的传播. A: 基于HEGs的全面基因驱动; B: 基于CRISPR/Cas9的全面基因驱动; C: 遵循孟德尔遗传的一般突变; D: 遵循超孟德尔遗传的全面基因驱动(橙色表示突变型个体, 灰色表示野生型个体)

Figure 2 The spread of gene drive insects in populations. A: Global gene drive based on HEGs; B: Global gene drive based on CRISPR/Cas9; C: Mendelian inheritance for general mutant; D: Super-Mendelian inheritance for global gene drive (mutant individuals are indicated in orange while wild types are in grey)

昆虫而言在小鼠中并不能完全达到预期的驱动效果,但这为利用基因驱动系统消灭入侵啮齿类动物提供了宝贵的研究经验。

然而,由于其强大的遗传转化能力及制控措施的缺乏,这种归巢策略具有相当的侵入性且不可逆转,有可能导致转基因昆虫在目标物种中广泛扩散,甚至造成整个物种被替换或者灭绝,进而导致一系列安全和道德问题^[42]。

3.2 分离式基因驱动系统

全面基因驱动系统的强大扩散能力使其对生态系统具有潜在的入侵风险。因此,研究人员提出了多种防范措施以尽量规避基因驱动系统可能造成的物种灭绝的后果^[39]。而分离驱动(split drive)及其改进版本——雏菊式驱动(daisy drive)系统则是一类极具潜力的减效替代策略^[43]。这种驱动方法是通过分离编码Cas9和

sgRNAs的表达盒——即将这两种表达盒分别放置于非连锁的几条染色体上,使其中几个元件失去自我驱动的能力。以其中一种三元件雏菊式基因驱动系统为例(图3A),由c元件驱动b元件,再由b元件驱动a元件进行归巢。位于驱动链条底部的c元件无法被驱动,并最终会随时间而丢失;而由于b和a元件依赖于c元件的驱动能力,这就使得a元件在快速扩增到种群中后还能够得到控制,对生态系统的侵入性相对于全面基因驱动策略而言大大降低。通过增加元件数量还能够提高其驱动效率,即元件越多,该系统在种群中的持久性越高。尽管最初提到这种策略的文章只是一篇预印本(未经同行评议),但由于其在限制野生种群方面的潜在高效率,已经吸引了许多从事遗传管理工作的研究人员的关注^[43]。考虑到全球性重大农业害虫和疾病媒介昆虫的严重危害及其对杀虫剂抗性的快速发展,雏菊式驱动系统是控制害虫野生种群的相当具有前景的替

图3 雏菊式驱动与分离式驱动系统的对比示例. A: 三元雏菊式基因驱动系统. c元件为编码sgRNA-b的元件(sgRNA-b为靶向b元件所在位点的sgRNAs), b元件编码Cas9蛋白, a元件则包含sgRNA-a(sgRNA-a为靶向a元件所在位点的sgRNAs)及其他效应基因的编码框. 由c元件驱动b元件, 再由b元件驱动a元件通过同源定向修复(HDR)进行归巢; B: 双元件分离式驱动系统. b元件为Cas9元件, a元件为sgRNA-a编码元件, 由b元件驱动a元件归巢. w表示野生型

Figure 3 Comparison between daisy drive and split drive designs. A: Three-component daisy drive system. The “c element” encodes sgRNA-b which targets the “b element.” The “b element” encodes Cas9 while the “a element” contains an effector gene and sgRNA targeting the loci where it is inserted. The “c element” drives the “b element,” which, in turn, drives the homing of the “a element” via HDR; B: Two-component split drive system. The “b element” is a Cas9 cassette while the “a element” is an sgRNA-a coding fragment. The “b element” drives the homing of the “a element”. w represents the wild-type allele

代方法. 在该系统的基础上, Min等人^[44]还结合显性不足(underdominance)原理提出了daisy quorum drive系统, 以实现局部、瞬时和可逆的种群基因编辑.

然而, 引入多个基因驱动元件具有较大的技术难度, 在此之前可先尝试构建较为简单的驱动系统. 双元件驱动方法(即分离驱动, split drive)是雏菊式驱动系统的最简单形式, 通过分别将Cas9表达盒与sgRNA编码框分别插入到非连锁的两个基因位点来避免元件的自我驱动(图3B). 这种方法已在酵母中尝试建立^[40,45]. 由于分离驱动的一个组成元件(Cas9表达盒)不能归巢, 因此受基因编辑的生物体在全球范围内传播的风险要低得多, 其遗传过程遵循传统的孟德尔遗传并受到自然选择的影响. 考虑到转基因昆虫存在一定的适合度代价, Cas9表达盒可能在种群中逐渐消失, 从而限制了sgRNA表达盒的扩散^[43]. 这种分离构建基因驱动片段的方法, 也能够减少实验室转基因昆虫意外逃逸可能造成的风险^[46].

4 基因整合策略

以上提及的RIDL和基因驱动技术都是利用转基因的方式将人工合成的表达盒整合到昆虫基因组中, 目前已见报道的整合策略主要有转座子介导的基因组位点随机整合以及基于同源定向修复(homology directed repair, HDR)机制的更为精准的位点特异性整合.

自1950年McClintock报道了在玉米中发现转座现象以来, 研究人员在许多植物、哺乳动物和昆虫中都相继发现了各种各样的转座系统, 例如*Sleeping Beauty*, *Minos*, *piggyBac*和仅在果蝇中适用的*P-element*等^[47,48]. 运用*piggyBac*转座系统向昆虫体内递送人为构建的表达盒已成为种系转化(germline transmission)最常用的方法, 在双翅目^[23~25]、鞘翅目^[49,50]、鳞翅目^[51,52]等昆虫中都有见报道. 理论上, *piggyBac*转座酶能够切割基因组中任意的TTAA位点, 并将外源序列整合到该位点中. 但在不同昆虫目, 甚至同一个目的不同种中, *piggyBac*的转座效率都不尽相同(例如在

小菜蛾中的转座效率就低于其他鳞翅目昆虫^[52]). Eckermann等人^[49]通过改造和构建高活性的*piggyBac*转座酶, 大大提高了这一转座系统的效率. 此外, 调整胚胎注射部位、次数、时间以及注射液的量也能够减少不必要的工作量, 提高基因整合的成功率, 并减少对受编辑昆虫的适合度代价^[49,51].

由于转座子在基因组中的插入位点是随机的, 可能在插入后破坏了某些重要基因的表达从而造成较高的适合度代价, 因此在进一步实验之前有必要先确定插入的位点, 并筛选对个体伤害较小的转基因品系^[27]. 位点特异性整合在一定程度上则能够避免这一问题的产生(通过在某些基因间区或对生长发育伤害较小的基因中进行插入), 同时也能够满足其他的研究需要(如构建性别特异致死或不育的转基因品系)^[35]. 目前已被报道的三大基因编辑技术TALEN, ZFN和CRISPR/Cas9均能够用于切割基因组DNA产生双链断裂(double strand break, DSB), 在提供5'和3'端含有靶点同源序列的供体序列的情况下, 生物体以该序列为模板进行修复, 从而利用HDR原理将供体序列定点整合到基因组中. Zhang等人^[53]就利用TALEN技术在家蚕W染色体上完成了Cas9基因的定点敲入, 并通过将该Cas9品系与U6-sgRNA表达品系进行杂交进而实现雌性后代在胚胎时期的特异性致死. 家蚕作为鳞翅目昆虫中的模式生物, 在家蚕中进行的依赖于基因编辑的性别筛选将其他鳞翅目害虫种群遗传控制提供重要参照.

然而在正常的生物体内, 依赖于HDR的外源序列整合修复发生概率相对非同源修复(non-homologous end joining, NHEJ)而言较低, 如果待整合序列较长(包含多个基因元件), 则更难发生整合事件. Ma等人^[54]的研究表明, 通过敲除家蚕NHEJ通路上的关键基因*Ku70*, 能够提高虫体的HDR效率. 其他NHEJ通路上的重要基因还有*Ku80*, *Lig4*, *DNA-PK*等, 也能够作为敲除或敲降的对象, 以提高基于HDR的位点特异性整合的效率^[55-57].

通过优化整合元件也能够提高同源整合效率. Gratz等人^[58]在果蝇中比较了几种整合策略: 一是在*w¹¹¹⁸*果蝇中注射dsDNA供体序列和编码Cas9与sgRNAs的质粒; 二是在表达Cas9的转基因果蝇中注射dsDNA供体序列和编码sgRNAs的质粒; 三是在表达Cas9的转基因果蝇中注射dsDNA供体序列和体外转

录的sgRNAs. 结果表明, 在Cas9转基因品系中注射供体DNA和编码sgRNAs的质粒得到的种系转化效率最高. 相对于环状质粒, 以线性化的质粒作为供体模板能够得到更高的同源整合效率^[59]. 也有相关研究表明, 作为供体的ssDNA相对于dsDNA更容易与基因组DNA结合从而促进同源修复. 此外, 通过融合其他基因改造Cas9蛋白能够促进在DNA切口处进行HDR修复^[60].

也有其他研究是利用重组酶介导的表达盒置换策略(recombinase-mediated cassette exchange, RMCE)在基因组中引入特定片段. 首先通过HDR或*piggyBac*系统在基因组中引入一个序列特异的、较短的停靠位点(docking site), 构建docking品系, 再在该品系中置换停靠位点并插入待整合序列, 这虽然相对耗时和耗力, 但由于在停靠位点插入片段较短相对容易获得. 而且一旦建成docking品系, 能够用于不同实验中的外源片段的定点整合和对特定基因修饰的分析^[58,61,62].

此外, 在基因驱动系统中基因同源修复的准确度也应引起重视. 如果生物体进行了NHEJ修复而非HDR, 则sgRNA可能无法结合这条染色体上的靶标位点, 这就可能造成驱动抗性(drive resistance)的产生, 进而影响驱动效果^[63]. 为避免驱动抗性, 就需要选择对昆虫生长发育至关重要的基因作为靶标基因——NHEJ的产生将导致虫体因适合度代价太大而死亡或者不育, 因此这些“抗性位点”就难以在种群中保留下来^[39].

5 总结与展望

随着农业发展、国际经济贸易交流日益频繁以及全球气候变化, 有害昆虫在国家或地区间爆发和传播的机会大大增加^[64,65]. 自20世纪50年代以来, 研究人员就不断尝试利用遗传防控技术开展有害生物防控. 最早使用的SIT技术, 在许多国家和地区均取得了良好的害虫控制效果. 但由于SIT昆虫的适合度代价较大, 大规模生产和多次释放不育昆虫的成本较高, 限制了它的推广应用. 在传统SIT技术基础上改良的RIDL技术, 将转基因条件致死或不育昆虫应用于害虫种群治理中, 也成为了一种相对更为高效的替代策略. 但这两种自我限定型的遗传防控技术都需要持续释放大量基因修饰昆虫到目标种群中, 才能达到预期的控制效果. 相比之下, 基因驱动系统展示出了更大的遗传控

制潜能(表3). 运用全面基因驱动和其他减效版本的驱动系统, 只需要释放少量转基因昆虫, 就能够达到种群抑制或者种群灭绝的目的, 因此基因驱动能够被应用于对人类重大疾病媒介昆虫的防控, 如能够传播疟疾(malaria)、登革热(dengue)和黄热病(yellow fever)等的几种按蚊和伊蚊——控制种群数量或使其失去携带病原体的能力. 同时它也可以作为解决一些环境保护问题的有力工具, 包括保护濒危物种、消灭入侵生物和减少有毒化学农药的使用等^[39,66-68].

虽然基因驱动系统具有强大的种群置换、种群抑制甚至物种灭绝的潜能, 但在实际应用中还存在一些限制因素. 首先, 基因驱动只在有性繁殖的物种中起作用, 因此不能用于改造细菌或病毒. 其次, 除非释放大量的基因驱动昆虫, 否则该系统需要许多世代才能使带有改造性状的昆虫扩散到整个种群^[46]. 此外, 不同种群之间自然存在的基因差异也可能导致驱动失效^[39,69]. 在不同物种中建立基因驱动系统, 均需要大量的前期工作来进行靶标基因的功能验证和驱动元件的效能分析, 以及评估和优化这些驱动系统, 此外还需要获得政策法律的许可, 因此这不是一种能够在短期内投入应用并见效的遗传防控工具. 但考虑到其强大的应用潜力, 基因驱动系统仍具有相当大的前景, 值得更加深入的讨论与研究.

根据研究目的的不同, 研究人员可以采用不同的基因整合方式将所合成的表达盒插入到昆虫基因组中构建转基因昆虫. 其中, 在昆虫中使用范围最广的是 *piggyBac* 转座系统^[51]. 研究人员通过不断改良转座酶

及胚胎注射步骤, 提升了其在不同昆虫物种中的转座效率, 但这种基因插入仍具有较大的随机性, 难以完成精准的位点特异整合. 相比之下, 利用生物体内自然存在的HDR机制来进行基因整合就具有更高的准确度, 但同时也存在整合效率很低的缺点. 如何提高这些基因整合方法的效率, 使之更好地服务于昆虫功能基因验证及转基因昆虫品系的构建, 是今后研究人员必须攻克的技术难题.

一些相关技术文献及研究综述中均提到过, 在研究遗传防控技术的过程中应注意建立严格的安全措施, 防止实验室昆虫意外逃逸到野外, 对生态系统造成潜在的危险. 这些体系包括建造独立隔绝的研究饲养场所和定期进行周边监测, 将研究地点选在转基因昆虫难以存活的地地区(如气温低于昆虫能够生长的温度或者野外不存在野生型靶标昆虫), 构建条件性致死或不育的实验室研究品系和建立可能的反向驱动(reverse drive)措施等^[39,45,46].

诚然, 转基因昆虫在最终释放到野外之前仍需要经过严格、全面的风险评估, 并得到政府和公众的理解与支持. 但是在全球范围内, 运用SIT技术消灭有害昆虫已经有60多年的应用经验, 此外基于RIDL技术的基因改造昆虫的田间试验也已被一些国家批准并实施^[4]. 因此, 尽管不同国家之间的相关政策及公众对此的态度存在较大的差异, 但凭借已开展的研究基础, 逐步建立健全国家政策、公众态度和科学研究三者间的良性互动, 将为未来利用成熟的遗传防控技术控制野生害虫种群提供无限的可能.

表 3 三种害虫遗传防控技术的对比

Table 3 Comparison among three genetic control techniques for insect pests

项目	不育昆虫技术	释放携带显性致死基因昆虫技术	基因驱动技术
基因改造策略	利用物理辐射或化学处理破坏基因组, 不需构建转基因昆虫	构建转基因昆虫	构建转基因昆虫
种群控制策略	自我限定型, 种群抑制	自我限定型, 种群抑制	自我维持型, 种群抑制、种群置换或种群灭绝
基因改造昆虫扩散能力	弱	弱	强
基因改造昆虫适合度代价	适合度代价大, 与野生型相比竞争力较弱	适合度代价相对较小	适合度代价相对较小
基因改造昆虫释放前性别筛选方式	主要依据雌雄虫重、羽化时间等差异进行筛选, 具有一定假阳性	性别特异致死或带有性别特异表型, 筛选准确率较高	性别特异致死或带有性别特异表型, 筛选准确率较高
是否已投入野外防控应用	已进行大范围释放	小范围试点释放	尚未进行野外释放

参考文献

- 1 Furlong M J, Wright D J, Dosdall L M. Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects. *Annu Rev Entomol*, 2013, 58: 517–541
- 2 Li Z, Feng X, Liu S S, et al. Biology, ecology, and management of the diamondback moth in China. *Annu Rev Entomol*, 2016, 61: 277–296
- 3 Black W C Iv, Alphey L, James A A. Why RIDL is not SIT. *Trends Parasitol*, 2011, 27: 362–370
- 4 Alphey L. Genetic control of mosquitoes. *Annu Rev Entomol*, 2014, 59: 205–224
- 5 Dyck V A, Hendrichs J, Robinson A S. Sterile Insect Technique: Principles and Practice In Area-Wide Integrated Pest Management. Dordrecht: Springer Netherlands, 2005
- 6 Knipple D C. Prospects for the use of transgenic approaches to improve the efficacy of the sterile insect technique (SIT) for control of the codling moth *Cydia pomonella* Linnaeus (Lepidoptera: Tortricidae). *Crop Protect*, 2013, 44: 142–146
- 7 Alphey L. SIT 2.0: 21st century genetic technology for the screwworm sterile-insect program. *BMC Biol*, 2016, 14: 80
- 8 Robinson A. Mutations and their use in insect control. *Mutat Res/Rev Mutat Res*, 2002, 511: 113–132
- 9 Alexander J L. Screwworms. *J Am Vet Med Associat*, 2006, 228: 357–367
- 10 Bloem S, Carpenter J E. Evaluation of population suppression by irradiated Lepidoptera and their progeny. *Florida Entomol*, 2001, 84: 165–171
- 11 Rendón P, McInnis D, Lance D, et al. Medfly (Diptera: Tephritidae) genetic sexing: Large-scale field comparison of males-only and bisexual sterile fly releases in Guatemala. *J Econ Entomo*, 2004, 97: 1547–1553
- 12 Wyss J H. Screw-worm eradication in the Americas—overview. In: Tan K H, ed. Area-wide Control of Fruit Flies and other Insect Pests. International Conference On Area-Wide Control of Insect Pests, 28 May–2 June, 1998 and the Fifth International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance, Penang, Malaysia, 1–5 June, 1998. Pulau Pinang: Penerbit Universiti Sains Malaysia, 2000. 79–86
- 13 Hendrichs J, Robinson A S, Cayol J P, et al. Medfly areawide sterile insect technique programmes for prevention, suppression or eradication: The importance of mating behavior studies. *Florida Entomol*, 2002, 85: 1–13
- 14 Vreysen M J B, Robinson A S. Ionising radiation and area-wide management of insect pests to promote sustainable agriculture. A review. *Agronomy Sust Developm*, 2011, 31: 233–250
- 15 Weidhaas D E, Breeland S G, Lofgren C S, et al. Release of chemosterilized males for the control of *Anopheles albimanus* in El Salvador. *Am J Trop Med Hygiene*, 1974, 23: 298–308
- 16 Benedict M, Robinson A S. The first releases of transgenic mosquitoes: An argument for the sterile insect technique. *Trends Parasitol*, 2003, 19: 349–355
- 17 Henneberry T J. Integrated systems for control of the pink bollworm *Pectinophora gossypiella* in Cotton. In: Vreysen M J B, Robinson A S, Hendrichs J, eds. Area-Wide Control of Insect Pests: From Research to Field Implementation. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007. 567–579
- 18 Bloem S, Carpenter J, Mccluskey A, et al. Suppression of the codling moth *Cydia pomonella* in British Columbia, Canada using an area-wide integrated approach with an SIT components. In: Vreysen M J B, Robinson A S, Hendrichs J, eds. Area-wide Control of Insect Pests: From Research to Field Implementation. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007. 591–601
- 19 Moriya S, Miyatake T. Eradication programs of two sweetpotato pests, *Cylas formicarius* and *Euscepes postfasciatus*, in Japan with special reference to their dispersal ability. *Japan Agricul Res Quart*, 2001, 35: 227–234
- 20 Wang Y S, Cai Y Y, Wu Q, et al. Used of lethal genes in sterile insect technique for pest control: A review (in Chinese). *J Biosafety*, 2015, 24: 136–147 [王玉生, 蔡玉音, 武强, 等. 害虫遗传不育技术中致死基因的研究与应用. 生物安全学报, 2015, 24: 136–147]
- 21 Labbé G M C, Scaife S, Morgan S A, et al. Female-specific flightless (fsRIDL) phenotype for control of *Aedes albopictus*. *PLoS Negl Trop Dis*, 2012, 6: e1724
- 22 Fu G, Lees R S, Nimmo D, et al. Female-specific flightless phenotype for mosquito control. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 4550–4554
- 23 Wise de Valdez M R, Nimmo D, Betz J, et al. Genetic elimination of dengue vector mosquitoes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 4772–4775
- 24 Concha C, Palavesam A, Guerrero F D, et al. A transgenic male-only strain of the New World screwworm for an improved control program using the sterile insect technique. *BMC Biol*, 2016, 14: 72
- 25 Ant T, Koukidou M, Rempoulakis P, et al. Control of the olive fruit fly using genetics-enhanced sterile insect technique. *BMC Biol*, 2012, 10: 51
- 26 Marubbi T, Cassidy C, Miller E, et al. Exposure to genetically engineered olive fly (*Bactrocera oleae*) has no negative impact on three non-target

- organisms. [Sci Rep](#), 2017, 7: 11478
- 27 Jin L, Walker A S, Fu G, et al. Engineered female-specific lethality for control of pest Lepidoptera. [ACS Synth Biol](#), 2013, 2: 160–166
- 28 Harvey-Samuel T, Morrison N I, Walker A S, et al. Pest control and resistance management through release of insects carrying a male-selecting transgene. [BMC Biol](#), 2015, 13: 49
- 29 Tan A, Fu G, Jin L, et al. Transgene-based, female-specific lethality system for genetic sexing of the silkworm, *Bombyx mori*. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2013, 110: 6766–6770
- 30 Carvalho D O, McKemey A R, Garziera L, et al. Suppression of a field population of *Aedes aegypti* in Brazil by sustained release of transgenic male mosquitoes. [PLoS Negl Trop Dis](#), 2015, 9: e0003864
- 31 Lacroix R, McKemey A R, Raduan N, et al. Open field release of genetically engineered sterile male *Aedes aegypti* in Malaysia. [PLoS ONE](#), 2012, 7: e42771
- 32 Fu G, Condon K C, Epton M J, et al. Female-specific insect lethality engineered using alternative splicing. [Nat Biotechnol](#), 2007, 25: 353–357
- 33 Burt A. Site-specific selfish genes as tools for the control and genetic engineering of natural populations. [Proc R Soc London Ser B-Biol Sci](#), 2003, 270: 921–928
- 34 Gantz V M, Jasinskiene N, Tatarenkova O, et al. Highly efficient Cas9-mediated gene drive for population modification of the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi*. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2015, 112: E6736–E6743
- 35 Hammond A, Galizi R, Kyrou K, et al. A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*. [Nat Biotech](#), 2016, 34: 78–83
- 36 Simoni A, Siniscalchi C, Chan Y S, et al. Development of synthetic selfish elements based on modular nucleases in *Drosophila melanogaster*. [Nucl Acids Res](#), 2014, 42: 7461–7472
- 37 Gantz V M, Bier E. The mutagenic chain reaction: A method for converting heterozygous to homozygous mutations. [Science](#), 2015, 348: 442–444
- 38 Windbichler N, Menichelli M, Papatianos P A, et al. A synthetic homing endonuclease-based gene drive system in the human malaria mosquito. [Nature](#), 2011, 473: 212–215
- 39 Esvelt K M, Smidler A L, Catteruccia F, et al. Concerning RNA-guided gene drives for the alteration of wild populations. [eLife](#), 2014, 3: e03401
- 40 DiCarlo J E, Chavez A, Dietz S L, et al. Safeguarding CRISPR-Cas9 gene drives in yeast. [Nat Biotech](#), 2015, 33: 1250–1255
- 41 Grunwald H A, Gantz V M, Poplawski G, et al. Super-Mendelian inheritance mediated by CRISPR/Cas9 in the female mouse germline. [bioRxiv](#), 2018: 362558
- 42 Alphey L. Can CRISPR-Cas9 gene drives curb malaria? [Nat Biotechnol](#), 2016, 34: 149–150
- 43 Noble C, Min J, Olejarz J, et al. Daisy-chain gene drives for the alteration of local populations. [bioRxiv](#), 2016: 057307
- 44 Min J, Noble C, Najjar D, et al. Daisy quorum drives for the genetic restoration of wild populations. [bioRxiv](#), 2017: 115618
- 45 Akbari O S, Bellen H J, Bier E, et al. Safeguarding gene drive experiments in the laboratory. [Science](#), 2015, 349: 927–929
- 46 Oye K A, Esvelt K, Appleton E, et al. Regulating gene drives. [Science](#), 2014, 345: 626–628
- 47 Kawakami K, Largaespada D A, Ivics Z. Transposons as tools for functional genomics in vertebrate models. [Trends Genets](#), 2017, 33: 784–801
- 48 Venken K J T, Bellen H J. Chemical mutagens, transposons, and transgenes to interrogate gene function in *Drosophila melanogaster*. [Methods](#), 2014, 68: 15–28
- 49 Eckermann K N, Ahmed H M M, KaramiNejadRanjbar M, et al. Hyperactive *piggyBac* transposase improves transformation efficiency in diverse insect species. [Insect Biochem Mol Biol](#), 2018, 98: 16–24
- 50 Lorenzen M D, Berghammer A J, Brown S J, et al. *PiggyBac*-mediated germline transformation in the beetle *Tribolium castaneum*. [Insect Mol Biol](#), 2003, 12: 433–440
- 51 Gregory M, Alphey L, Morrison N I, et al. Insect transformation with *piggyBac*: getting the number of injections just right. [Insect Mol Biol](#), 2016, 25: 259–271
- 52 Martins S, Naish N, Walker A S, et al. Germline transformation of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L., using the *piggyBac* transposable element. [Insect Mol Biol](#), 2012, 21: 414–421
- 53 Zhang Z, Niu B, Ji D, et al. Silkworm genetic sexing through W chromosome-linked, targeted gene integration. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2018, 115: 8752–8756
- 54 Ma S, Chang J, Wang X, et al. CRISPR/Cas9 mediated multiplex genome editing and heritable mutagenesis of *BmKu70* in *Bombyx mori*. [Sci Rep](#),

2014, 4: 4489

- 55 Chu V T, Weber T, Wefers B, et al. Increasing the efficiency of homology-directed repair for CRISPR-Cas9-induced precise gene editing in mammalian cells. *Nat Biotech*, 2015, 33: 543–548
- 56 Maruyama T, Dougan S K, Truttmann M C, et al. Increasing the efficiency of precise genome editing with CRISPR-Cas9 by inhibition of nonhomologous end joining. *Nat Biotechnol*, 2015, 33: 538–542
- 57 Zhu L, Mon H, Xu J, et al. CRISPR/Cas9-mediated knockout of factors in non-homologous end joining pathway enhances gene targeting in silkworm cells. *Sci Rep*, 2015, 5: 18103
- 58 Gratz S J, Ukken F P, Rubinstein C D, et al. Highly specific and efficient CRISPR/Cas9-catalyzed homology-directed repair in *Drosophila*. *Genetics*, 2014, 196: 961–971
- 59 Wang Y, Tan A, Xu J, et al. Site-specific, TALENs-mediated transformation of *Bombyx mori*. *Insect Biochem Mol Biol*, 2014, 55: 26–30
- 60 Devkota S. The road less traveled: Strategies to enhance the frequency of homology-directed repair (HDR) for increased efficiency of CRISPR/Cas-mediated transgenesis. *BMB Rep*, 2018, 51: 437–443
- 61 Marinotti O, Jasinskiene N, Fazekas A, et al. Development of a population suppression strain of the human malaria vector mosquito, *Anopheles stephensi*. *Malar J*, 2013, 12: 142
- 62 Haghighat-Khah R E, Scaife S, Martins S, et al. Site-specific cassette exchange systems in the *Aedes aegypti* mosquito and the *Plutella xylostella* moth. *PLoS ONE*, 2015, 10: e0121097
- 63 Noble C, Adlam B, Church G M, et al. Current CRISPR gene drive systems are likely to be highly invasive in wild populations. *eLife*, 2018, 7: e33423
- 64 Li Z, Chen K, Yang F Y, et al. Application of genetic regulation technique for invasive pest management (in Chinese). *Bull Chin Acad Sci*, 2017, 32: 836–844 [李芝倩, 陈凯, 杨芳颖, 等. 适用于入侵害虫治理的遗传调控技术. 中国科学院院刊, 2017, 32: 836–844]
- 65 Baylis M. Potential impact of climate change on emerging vector-borne and other infections in the UK. *Environ Health*, 2017, 16: 112
- 66 Harvey-Samuel T, Ant T, Alphey L. Towards the genetic control of invasive species. *Biol Invasions*, 2017, 19: 1683–1703
- 67 Piaggio A J, Segelbacher G, Seddon P J, et al. Is it time for synthetic biodiversity conservation? *Trends Ecol Evol*, 2017, 32: 97–107
- 68 Dearden P K, Gemmell N J, Mercier O R, et al. The potential for the use of gene drives for pest control in New Zealand: A perspective. *J R Soc New Zealand*, 2018, 48: 225–244
- 69 Noble C, Olejarz J, Esvelt K M, et al. Evolutionary dynamics of CRISPR gene drives. *Sci Adv*, 2017, 3: e1601964

Research and applications of genetics-based methods for pest control

XU XueJiao^{1,2,3}, HE WeiYi^{1,2,3}, YANG Jie^{1,2,3}, CHEN Wei^{1,2,3} & You MinSheng^{1,2,3}

1 State Key Laboratory for Ecological Pest Control of Fujian and Taiwan Crops, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

2 Institute of Applied Ecology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

3 Joint International Research Laboratory of Ecological Pest Control, Ministry of Education, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

Since the 1950s, genetics-based methods for pest control have received a great deal of attention as an alternative traditional pest management strategy. It has been increasingly recognized as a novel tool for population suppression that is friendly to human health, food safety, and sustainable agriculture, and it can provide sound solutions to the issue of biological invasion. Here we present a review of the fundamental principles and some practical applications of the sterile insect technique (SIT), release of insects carrying a dominant lethal (RIDL), and gene drive. We also compare these techniques in terms of their advantages and disadvantages/limitations and discuss several transgene integration strategies in the hope of improving the theoretical study and technological development of integrated pest management.

genetic control, SIT, RIDL, gene drive

doi: [10.1360/N052018-00256](https://doi.org/10.1360/N052018-00256)