

Construction of spider venom peptide expressing baculovirus and its potential application as bioinsecticide

メタデータ	言語: en 出版者: Shizuoka University 公開日: 2015-12-18 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: MD., PANNA ALI メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.14945/00009292

(課程博士・様式9)

審 査 要 旨

専攻 バイオサイエンス 学籍番号 55244016 学生氏名 MD. PANNAALI

論文題目 Construction of spider venom peptide expressing baculovirus and its potential application as bioinsecticide (クモ毒ペプチドを発現するバキュロウイルスの構築及びバイオ殺虫剤としての応用)

農業分野における穀物の収量は、食物の安全保障に深く関わっている。しかし、地球全体の人口が増え続けている今、害虫による収量の低下は深刻な問題である。害虫防除には殆ど化学農薬が使用されているが、環境への悪影響、例えば地下水の汚染、健康被害、及び生物多様性破壊などが懸念されている。本博士論文は、生物農薬の問題点、「化学農薬に比べ速効性が低い点」を指摘しその改善について研究を行ったものである。本論文は緒論を含めて4章に構成されている。第2章で、速効性を高める目的でクモ (*Lachesana tarabaevi*) 毒ペプチド (cit1a) をバキュロウイルスに導入した。Cit1a は殺虫作用と同時に抗菌作用も併せ持っているペプチドである。全長の cit1a 遺伝子を PCR で増幅し EGFP (緑色蛍光タンパク質) に融合させ、融合タンパク質として発現した。発現後精製を行った後、種々の生化学的解析を行い 37 kDa の融合タンパク質であることを確認した。また、グラム陽性細菌として *Bacillus subtilis*、グラム陰性細菌として *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* を用いて抗菌活性を確認した。

そこで、バキュロウイルス発現系で発現が確認出来た cit1a をバキュロウイルスのポリヘドリンタンパク質 (Polh-Cit1a) に融合し、発現を試みた。2種類のバキュロウイルス、AcMNPV と BmNPV に Polh-Cit1a を導入した組換えバキュロウイルスを作製し、カイコ、Bm5 細胞や Sf9 細胞にて発現を確認したところ、何れの細胞においても感染し、Polh-Cit1a の発現が確認出来た。また、カイコを用いたバイオアッセイでは、野生バキュロウイルスに比べ致死時間 (LT₅₀) を大幅短縮することができた。組換え AcMNPV を用いた場合も類似な結果が確認出来た。

本研究成果は、生物農薬の問題点の改善に綱がる可能性が高く、さらに改良バキュロウイルスが生物農薬として有効であることを再確認するものである。

上記を踏まえ、最終審査の結果、博士 (学術) の学位を授与するに値するものと認められた。