

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Khondkar Ehteshamul Kabir
審査委員	主査 古賀大三 ㊞
	副査 松田英幸 ㊞
	副査 内海俊彦 ㊞
	副査 森嶋伊佐夫 ㊞
	副査 加藤昭夫 ㊞
題目	Purification and characterization of a novel chitinase from silkworm, <i>Bombyx mori</i> and observation its effects on Japanese pine sawyer, <i>Monochamus alternatus</i> Hope (Coleoptera: Cerambycidae) as biopesticide
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p>本論文は、昆虫の脱皮に関与しているキチナーゼの応用・利用として、現在、深刻な環境問題を引き起こしている、松くい虫に対するバイオ農薬（酵素農薬）の可能性を示したものである。</p>	
<p>第一章では、カイコの5齢期幼虫から新規のキチナーゼ (75-kDa CHI) を、DEAE Toyopearl 650M、hydroxylapatite、Fractogel EMD DEAE 650M を用いたカラムクロマトグラフィーにより精製し、その特性を調べている。その結果、分子量は75 kDa、至適 pH は、高分子基質のグリコールキチンに対して10、低分子基質のN-アセチルキトペンタオースに対して6であり、至適温度は、グリコールキチンに対して25℃、N-アセチルキトペンタオースに対して60℃であった。また、安定性は、pH 7~10、40℃以下で安定であった。さらに、酵素反応解析により、Retaining mechanism で加水分解する、エンド型加水分解酵素であることを明らかにしている。また、N末端アミノ酸配列のデータからも、本キチナーゼがファミリー18キチナーゼに属することを明らかにしている。以上の結果、とくに本酵素の至適条件及び安定性の特性から、本カイコキチナーゼ (75-kDa CHI) は害虫に対するバイオ農薬としての可能性を有する、と論じている。</p>	
<p>第二章では、本カイコキチナーゼ (75-kDa CHI) が、松くい虫の重大な一因である、マツノザイセンチュウを運ぶ役割を果たす、マツノマダラカミキリムシに対しバイ</p>	

オ農薬（酵素農薬）としての可能性を調べている。実験方法は、マツノマダラカミキリの成虫に、精製した 75-kDa CHI を経口投与して、死亡率、松樹皮の食餌量、体重減少を調べた。その結果、キチナーゼ濃度に依存した高い致死量（一匹当たり 3 μ M、50 μ L（11.25 μ g/50 μ L）の投与で、75%の殺虫効果）、および食餌量の減少（約 1/20）と、また高濃度キチナーゼ溶液のみ体重減少（315 mg から 305 mg へ）がみられた。次に、その殺虫効果の作用部位を調べるため、消化管の栄養囲膜キチンへの影響をキチン結合性の蛍光色素を用いた蛍光顕微鏡で、さらに、組織への影響を走査電子顕微鏡で観察している。その結果、高濃度のキチナーゼ溶液で、顕著な栄養囲膜キチンの分解がみられた。これらの結果は、昆虫キチナーゼが害虫に対するバイオ農薬の可能性を示唆するものと思われる。

以上、本研究は、カイコキチナーゼ（75-kDa CHI）が、これまでの化学農薬に替わり、バイオ農薬（酵素農薬）として、害虫駆除に利用可能であることを示したもので、高く評価できる。