

行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中進度報告

建立及最佳化荳莢螟核多角體病毒和其細胞株之體外增殖
系統以作為量產病毒、基因組解序和表現載體系統的構築
(1/2)

期中進度報告(精簡版)

計畫類別：個別型
計畫編號：NSC 96-2317-B-002-008-
執行期間：96年01月01日至96年12月31日
執行單位：國立臺灣大學昆蟲學系暨研究所

計畫主持人：王重雄
共同主持人：蔡孟峰

處理方式：本計畫可公開查詢

中華民國 97年03月25日

「農業生物技術國家型科技計畫」96年工作進度報告表

壹、基本資料

計畫編號	NSC96-2317-B-002-008	經費來源	國科會
計畫主持人	王重雄	執行單位	台灣大學昆蟲學研究所
計畫名稱	建立及最佳化荳莢螟核多角體病毒和其細胞株之體外增殖系統以作為量產病毒、基因組解序和表現載體系統的構築		
目標產業別	生物反應器生產特用產品相關技術之開發		
執行全期	96年1月1日 <input type="checkbox"/> 97年12月31日		

貳、工作進度甘梯圖

月次 工作項目	96年度												備註	
	第1月	第2月	第3月	第4月	第5月	第6月	第7月	第8月	第9月	第10月	第11月	第12月		
荳莢螟細胞株之撈拌或搖瓶(3-D)培養條件之建立	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
穩定表現載體之構築及測試				***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
桿狀病毒表現系統之比較	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
微陣列晶片之建立								***	***	***	***	***	***	
基因體序列之解序與 ORF74 之功能分析	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	
結果整理與報告撰寫			***			***			***			***		
預定進度累計百分比			25%			50%			75%			100%		

□、進度報告

「農業生物技術國家型科技計畫」96年工作進度報告表

<p>➤ 計畫摘要及目標</p>	<p>豇莢螟 (<i>Maruca vitrata</i>) 是熱帶和亞熱帶之重要荳科作物害蟲，尤其亞洲及非洲地區。在台灣終年皆發生，且此蛾對台灣荳科經濟作物之危害程度，正逐年加深。豇莢螟核多角體病毒 (<i>Maruca vitrata</i> multiple nucleopolyhedrovirus 簡稱 MaviMNPV) 在台灣首次被發現，並可感染從豇莢螟蛹體成功建立的高接受性細胞株 (NTU-MV cell line)。據此體外增殖系統的建立以及 MaviMNPV 基因組之解序，擬定兩年計畫以構築其表現載體和進行病毒功能基因體之研究及運用。第一年、進行的項目有 (1) 細胞株化量產和病毒量產流程之建立；(2) 表現載體構築 (IE 及 <i>polyhedrin</i>) 以表現外源蛋白 EGFP 並與商業化加州苜蓿夜蛾核多角體病毒 (<i>Autographa californica</i> multiple nucleopolyhedrovirus, AcMNPV) 系統和本實驗室建立之黑角舞蛾核多角體病毒 (<i>Lymantria xyli</i>na MNPV, LyxyMNPV) 系統比較；和 (3) 製作 MaviMNPV 基因晶片。第二年、進行工作包括 (1) 改善細胞及病毒量產系統；(2) 表現蝦白點症病毒 (WSSV) 外套膜蛋白，並比較三種 BEVS (baculovirus expression vector systems) 的優劣；(3) 利用晶片研究病毒基因的調控：測定病毒抗凋亡基因或其他重要基因在感性細胞及不感性細胞的表現時序及定量測驗。</p>
<p>➤ 全程預定進度 (多年期請分年陳述)</p>	<p>第一年 量產豇莢螟細胞株及MaviMNPV，利用3-D培養豇莢螟細胞株；大量製備MaviMNPV基因組 DNA；重要基因 (多角體蛋白；p10；IE 基因) 之選殖及傳送載體之構築；桿狀病毒表現系統之比較與潛力評估；利用建構好之表現系統進行蝦白點症病毒外套膜蛋白之生產與應用</p> <p>第二年 改善細胞與病毒量產系統；表現載體之效益評估；利用基因晶片進行病毒基因體表現時序之研究，並分析病毒感染接受性細胞株與不接受性細胞株之基因調控差異。</p>
<p>➤ 實際進度</p>	
<p>至96年10月止</p>	<p><input type="checkbox"/>超前 <input checked="" type="checkbox"/>符合 <input type="checkbox"/>落後，請說明原因：</p>
<p>至96年12月止</p>	<p><input type="checkbox"/>超前 <input type="checkbox"/>符合 <input type="checkbox"/>落後，請說明原因：</p>
<p>➤ 執行成果約250字內，條列式為佳</p>	
<p>至96年10月止</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 豇莢螟細胞株中較易懸浮的子細胞株 (MV126, MVA6和MVB2) 可以撈拌培養的方式大量培養，還在找尋病毒產量最高的子細胞株。 2. 利用轉綠螢光蛋白基因之桿狀病毒初步比較三種桿狀病毒表現系統得知，本實驗室所建立之 MaviBEV / NTU-MV 系統具有高潛力發展成與 AcBEV / Sf9 系統媲美之表現系統。 3. 利用 <i>p10</i> 所建構之載體已完成，目前正利用報導基因測試中。 4. ORF74 抗體因之前生技公司代做之抗體會抓到非專一性片段，現在正在重做中。 5. MaviMNPV 之基因晶片已建構完成，正初步進行基因表現時序之探討
<p>至96年12月止</p>	
<p>執行成果檢討約250字內，條列式為佳</p>	

「農業生物技術國家型科技計畫」96年工作進度報告表

至96年10月止	實際進度符合預期進度
至96年12月止	

肆、經費運用

全程經費	_____元
至96年 7月止	目前支用 _____元 / 本年經費 _____元 = _____%
至96年12月止	目前支用 _____元 / 本年經費 _____元 = _____%
經費執行困難之說明	

伍、人力運用

參與研究人員	博士班研究生 乃育昕、陳韻如、葉斯佳
計畫培育人才	博士後 _____人 專任碩士助理 _____人、學士助理 _____人 博士生 _____3_____人、碩士生 _____人、學士 _____人 其他 _____人

陸、績效指標

成果形式	數值	請逐篇列舉 論文著作需包括：Paper Title, Authur, Year, Journal (全名), Vol. & Page
論文著作	國內	<input type="checkbox"/> 期刊論文 _____件
		<input type="checkbox"/> 學術論文 _____件
		<input type="checkbox"/> 研討會論文 _____件
		<input type="checkbox"/> SCI論文 _____件
		<input type="checkbox"/> 專書 _____件
		<input type="checkbox"/> 技術報告 _____件
	國際	<input type="checkbox"/> 期刊論文 _____件
		<input type="checkbox"/> 學術論文 _____件
		<input type="checkbox"/> 研討會論文 _____件
		<input type="checkbox"/> SCI論文 _____件
		<input type="checkbox"/> 專書 _____件

「農業生物技術國家型科技計畫」96年工作進度報告表

	<input type="checkbox"/> 技術報告 ___件	
專門技術	___件	名稱：
申請專利情形	<input type="checkbox"/> 無	
	<input checked="" type="checkbox"/> 預備申請_1_件	名稱：豆莢螟細胞株
	<input type="checkbox"/> 申請中 ___件	申請人、名稱、國家、申請證號：
	<input type="checkbox"/> 已通過 ___件	所有人、名稱、國家、通過證號：
技術轉移情形	<input type="checkbox"/> 無	
	<input type="checkbox"/> 可技轉技術項	名稱：
	<input type="checkbox"/> 已技轉授權項	名稱、對象、年限及金額：
其他協助產業發展之具體績效	<input type="checkbox"/> 新公司或衍生公司	名稱：
	<input type="checkbox"/> 產業諮詢或指導	
	<input type="checkbox"/> 主辦相關研討會	名稱：
	<input type="checkbox"/> 本計畫之產業推動及整合	
	<input type="checkbox"/> 其他未及歸類者，請說明	

、具代表性成果圖片說明約250字內

請將圖片以附檔寄送，本項將列為本辦公室對外展現成果引用之參考，可於每次送交報告時更新，自行增減。

圖片一

圖片二：