

プラズマ照射による植物細胞への分子導入

Molecular introduction into plant cells by plasma irradiation

池田善久¹⁾, 西雅明¹⁾, 宮本聡一郎¹⁾, 木戸祐吾^{1,2)}, 佐藤晋^{1,3)}, 小林括平⁴⁾, 神野雅文¹⁾
Yoshihisa Ikeda¹⁾, Masaaki Nishi¹⁾, Souichiro Miyamoto¹⁾, Yugo Kido^{1,2)}, Susumu Sato^{1,3)},
Kappei Kobayashi⁴⁾, Masafumi Jinno¹⁾

1)愛大院理工, 2)パール工業, 3)ワイ'ズ, 4)愛大院農)
1)Ehime Univ. 1, 2)Pearl Kogyo Co. Ltd., 3)Y's Corp., 4) Ehime Univ.

1. 序論

人口増加や異常気象による不作などを背景に、世界的に食料問題が懸念されている。その対策の1つとして遺伝子組み換えやゲノム編集による効率的な育種・育苗が注目されている。そこで必須の遺伝子・分子導入であるが、既存の手法は、非汎用性や侵襲性の問題がある。本研究では、動物細胞に対して高効率、低侵襲で汎用性の高い導入法として実績のある、大気中マイクロプラズマをタバコ葉およびタバコカルスに用い巨大分子である蛍光分子導入を試みた。

2. 実験方法

図1に実験の概略図を示す。標的細胞はタバコ(*Nicotiana Benthiana*)葉およびタバコの未分化細胞(カルス)を用いた。導入物質は分子量2 MDa の蛍光色素 FITC-Dextran(Sigma-Aldrich: FD2000S)を用いた。タバコ葉は接地した導電性ゲルパッド電極(日本メディカルネクスト:サーモガード51-7810)上に静置し、カルスは銅板接地電極の上に載せた3.5 cmディッシュに静置した。高圧側電極は針状電極とし先端から葉の表面までの距離は1 mmとした。電極間に周波数20 kHz、振幅6.5 kVの正弦波を印加してプラズマを生成し、放電時間を5 msから25 msの範囲で変化させた。プラズマ処理後に蛍光分子溶液(1 µg/µl)を照射部位に4 µl滴下し、60分静置した。その後流水にて40分間洗浄を行った後、顕微鏡で蛍光観察を行った。

3. 結果と考察

図2(a)にタバコ葉へのFITC-Dextran導入結果を示す。パズルピースに似た形状で緑色の蛍光を発する細胞が確認できる。蛍光領域の形状よりこれらの細胞は葉の表皮細胞であることがわかる。表皮細胞より蛍光が弱い箇所は、柵状組織と考えられる。図2(b)に示すように、カルスについても、プラズマ処理により蛍光分子が導入されることを確認した。

プラズマ処理による分子の導入経路として、タバコ葉の場合はプラズマ処理で葉表面のクチクラ層の除去[1]および細胞壁への穿孔が生じ、蛍光分子が細胞膜まで到達し、細胞膜の穿孔もしくはエンドサイトーシスにより最終的に細胞内に導入されているものと考えられる。カルスの場合は細胞壁が組織に比べて薄い一次細胞壁のみで構成されるため、葉細胞に比べて蛍光分子が細胞壁を突破しやすく、導入量が増え蛍光強度が増加したと考えられる。

4. まとめ

プラズマ照射することにより、タバコ葉およびカルスに巨大分子であるFITC-dextran(2 MDa)が導入されることが確認された。

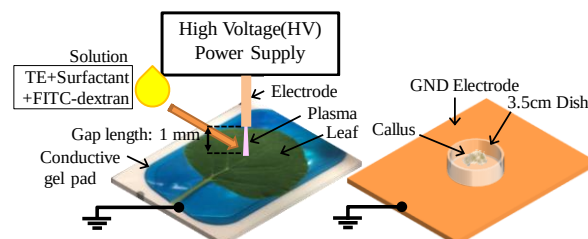


Fig.1 Schematic diagram of experimental equipment.

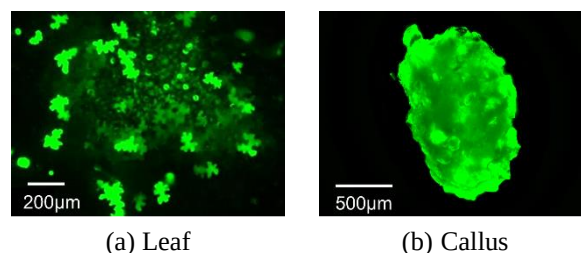


Fig.2 Fluorescence microscope images of Tobacco.

謝辞

本研究は愛媛大学リサーチユニットの助成を受けたものです。

参考文献

- [1] 西他：応用物理学会秋季学術講演会, 20p-146-5 (2018)