

植物試料へのフェムト秒レーザー分子導入のための圧力制御装置の開発

Development of Pressure Control System to Realize Femtosecond Laser Photoporation for Plant Cell

奈良先端大学物質創成 °新屋 龍太郎, 坂口 さや香, 細川 陽一郎

Grad. Sch. Mat. Sci., NAIST °Ryutaro Shinya, Sayaka Sakaguchi, Yoichiro Hosokawa

E-mail: s-ryutaro@ms.naist.jp

生物を構成する細胞の持つ機能は遺伝子によって制御されているため、単一細胞レベルで遺伝子を導入できると、細胞の機能を人為的に制御することができる。また、特定の細胞に蛍光性分子を導入できると、細胞の持つ機能を可視化できる。このような背景の下、近年では単一細胞レベルでの細胞外物質の導入の試みがなされている。我々はフェムト秒レーザーを用いた遺伝子導入手法に着目し特定の動物細胞に単一細胞レベルで細胞外物質を導入することに成功している。¹さらに現在、この技術を植物細胞にも応用しようとしているが、細胞内に生じている膨圧（内側から外側への圧力）により細胞外物質の導入が困難である。そこで本研究では、外圧によってこの膨圧を制御し、フェムト秒レーザーによる植物細胞への遺伝子導入を可能とすることを目的とした圧力制御装置の開発を行った。

本研究で開発を進めた圧力制御装置の概略を図 1 に示す。本実験系では、図右側のシリンジを用いて加圧した空気を、図左側の試料チャンバーに導入することで試料を加圧する。空気の圧力は、シリンジとチャンバーの間に配置された圧力センサーにより常時計測できるようになっている。試料チャンバーの下部に厚さ 100 μm のガラス板を用いることで試料部へのフェムト秒レーザーの照射を可能とした。植物試料は、このチャンバーの下部に水溶液と共に保持される機構になっている。機能性の分子を添加した水溶液の圧力を細胞の膨圧よりも高くし、フェムト秒レーザーにより水溶液に接している細胞壁に微小な穴を開けることができれば、細胞外の分子を細胞に導入することができると考えられる。まずは植物試料の代わりに空気を内包の入ったキャピラリーをチャンバー下部の水に沈め、この装置によりチャンバー内の試料を加圧できることを確認した。

その結果、キャピラリー内の空気の体積は、シリンジによる加圧によりとともに減少し、植物細胞の膨圧よりも高いと考えられる 10 気圧程度までの加圧できることが示された。本発表では、蛍光標識した脂質分子である FITC-dextran を用いて、植物細胞への細胞外分子の導入特性について評価した結果について報告する。

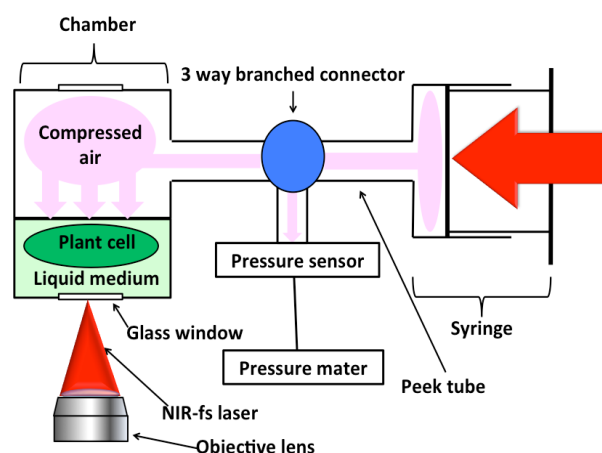


Fig. 1 Schematic set up of the pressure control system

1. Y. Hosokawa, H. Ochi, T. Iino, PLoS ONE, 2011, 6:e27677