

マルチガスプラズマジェットを用いた植物細胞への生体高分子導入

Introduction of macromolecules into plant cells using a multi-gas plasma jet

農研機構生物機能部門¹, 東工大未来研² ○柳川 由紀¹, 川野 浩明², 小林 智裕², 宮原 秀一², 沖野 晃俊², 光原 一朗¹

Inst. Agrobiol. Sci., NARO¹, FIRST, Tokyo Inst. Tech.², °Yuki Yanagawa¹, Hiroaki Kawano², Tomohiro Kobayashi², Hidekazu Miyahara², Akitoshi Okino², Ichiro Mitsuhashi¹

E-mail: yyana@affrc.go.jp

タンパク質や DNA などの生体高分子を生細胞へ導入する技術は、基礎研究はもとより産業的にも利用価値があると考えられる。特に、植物細胞へ簡単に生体高分子を導入することができれば、品種改良や開花制御などを通して農業に貢献できると期待される。しかし、既存の生体高分子導入法では、植物に特別な前処理をする必要がある、限られた植物種や組織にしか適用できない、等の問題があり、より手軽に様々な植物種や組織に利用可能な技術が求められている。そこで、私たちは、マルチガスプラズマジェット(プラズマコンセプト東京、PCT-DFPJ02)を用いて、植物細胞に生体高分子を導入する技術を開発した。なお、本研究では、ガス流量は 5 L/min、射出口の内径は 1 mm、植物との距離は 5 mm でプラズマ照射した。このときの放電条件は 16 kHz、9 kV、放電電力は約 10 W であった。

タバコ葉片に CO₂ あるいは N₂ の大気圧低温プラズマ(約 20-30°C)を照射した後、緑色蛍光タンパク質である sGFP (Superfolder green fluorescence protein) 融合タンパク質を含む溶液に接触させた。この葉を共焦点顕微鏡で観察すると、CO₂ あるいは N₂ プラズマ処理葉では sGFP の緑色蛍光がタバコ葉の細胞内部に観察されたことから、プラズマ処理によってタンパク質が細胞内に取り込まれたと考えられる(Fig 1)。一方、ガス照射葉(ネガティブコントロール)では sGFP の緑色蛍光は観察されなかった。

さらに、イネの根、シロイヌナズナ葉でも sGFP 融合タンパク質の導入実験を行ったところ、タバコ葉片と同様の結果が得られた。

次に、タバコ葉片に CO₂ プラズマを照射した後、タンパク質と同様の方法で sGFP 遺伝子を持つ DNA と接触させた。この sGFP 遺伝子を持つ DNA が細胞内に導入されれば、その DNA を鋳型として mRNA への転

写が起こり、さらに翻訳過程を経て sGFP タンパク質が生成されることにより、sGFP の緑色蛍光が観察される。プラズマ処理後に DNA と接触させた葉片で sGFP の緑色蛍光が観察されたことから、プラズマ照射によってタンパク質だけでなく DNA の導入も可能であると示された(Fig 1)。 <参考文献> Yanagawa et al (2017) PLoS One 12 (2) e0171942

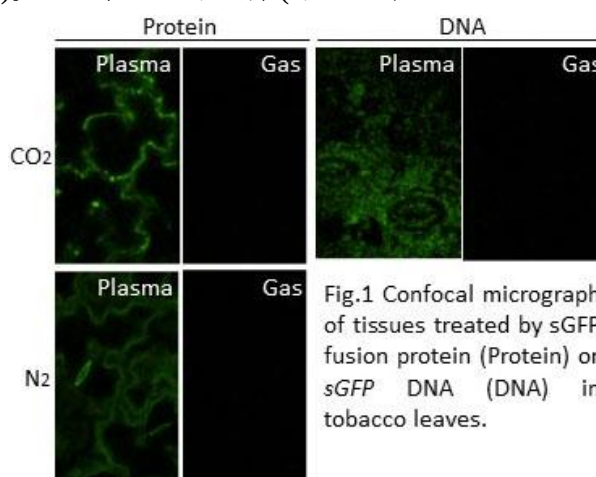


Fig.1 Confocal micrograph of tissues treated by sGFP fusion protein (Protein) or sGFP DNA (DNA) in tobacco leaves.