

プラズマ照射による植物へのタンパク質導入の機序解明に向けた 植物細胞の顕微鏡観察

Microscopic observation of cells for elucidation of the mechanism
of protein introduction into plant cells by plasma irradiation

東工大未来研¹, 農研機構², 理研 CSRS³, ○飯島勇介¹, 守屋翔平¹, 末永祐磨¹,

柳川由紀^{2,3}, 光原一朗², 沖野晃俊¹

FIRST, Tokyo Tech.¹, Natl. Inst. Food Res. Org.², CSRS, RIKEN³, ○Yusuke Iijima¹, Shohei Moriya¹,

Yuma Suenaga¹, Yuki Yanagawa^{2,3}, Ichiro Mitsuahara², Akitoshi Okino¹

E-mail: iijima@plasma.es.titech.ac.jp

近年、農作物の品種改良の方法としてゲノム編集が期待されている。ゲノム編集とは、CRISPR/Cas9 などの部位特異的ヌクレアーゼと呼ばれるタンパク質またはタンパク質/RNA 複合体を細胞内に導入し、特定の DNA 配列を選択して切断することで遺伝子を精密に改変する技術である。現在、動物細胞へタンパク質を導入する技術としては、リポフェクションやエレクトロポレーションなどが開発されているが、植物細胞は細胞壁やクチクラ層を持つため、従来の導入技術では適用できる植物種や組織が限られている。

我々は、プラズマ照射による植物細胞へのタンパク質導入技術の研究を行っている。これまでの一般的な大気圧低温プラズマ装置では、ボンベから供給される室温のガスに高電圧を印加してプラズマを生成するため、プラズマのガス温度は 50~100℃程度となっていた。このため、植物に熱損傷を与えずにプラズマを照射することが困難であった。そこで我々は、プラズマのガス温度を 10~100℃程度まで任意に制御することが可能な温度制御プラズマを開発した。これにより、植物に熱損傷なくプラズマを照射することが可能になった。ガス温度を約 20℃に制御した窒素と二酸化炭素のプラズマを植物の葉や根に照射し、GFP タンパク質 (His-sGFP-CyaA) を含む溶液に浸漬させることで、植物細胞内へのタンパク質の導入実験を行った。共焦点レーザー顕微鏡を用いてプラズマを照射したタバコの葉の蛍光観察を行った結果を図 1 に示す。細胞内に GFP の蛍光を確認することができ、植物へタンパク質を導入することに成功した^[1]。この結果の要因としては、クチクラ層の除去などプラズマ照射による植物組織の構造の変化が寄与していると予想される。本研究では、植物へのタンパク質導入の機序解明に向けて、光学顕微鏡や電子顕微鏡を用いて形態学的な考察を行った。光学顕微鏡では染色した組織の観察を行い、電子顕微鏡では植物細胞の高分解能観察を行った。発表では、顕微鏡による植物細胞の観察を行った結果を報告する。

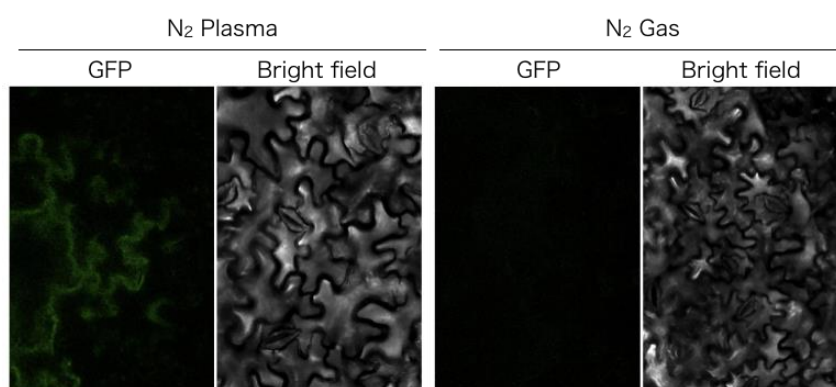


Fig1. Subcellular localization of introduced His-sGFP-CyaA in the cells of tobacco leaves

[1] Y. Yanagawa, H. Kawano, T. Kobayashi, H. Miyahara, A. Okino and I. Mitsuahara, "Direct protein introduction into plant cells using a multi-gas plasma jet", PLOS ONE, 12, e0171942 (2017).