# プラズマを用いた植物細胞への分子導入のエンドサイトーシス依存性の役割

# Importance of endocytosis in the mechanism of molecular introduction into plant cells using discharge plasma

愛大院理工 [1], パール工業 [2], ワイ’ズ [3], 愛大院農 [4] ○池田 善久 [1], (M2)西 雅明 [1], (B)宮本 聡一朗 [1], 木戸 祐吾 [1,2], 佐藤 晋 [1,3], 小林 括平 [4], 神野 雅文 [1]

Ehime Univ. [1,4], Pearl Kogyo Co. Ltd.[2], Y’s Corp.[3], ○Yoshihisa Ikeda[1], Yoshihisa Ikeda[1], Masaaki Nishi[1], Souichiro Miyamoto[1], Yugo Kido[1,2], Susumu Satoh[1,3], Kappei Kobayashi[4], Masafumi Jinno[1]

E-mail: mjin@mayu.ee.ehime-u.ac.jp

**1.序論**　著者らは、タバコ葉にプラズマ照射を行い、表皮細胞に 2 MDa の蛍光分子(FITC-Dextran)を導入することに成功した。また、プラズマ照射された葉のワックスおよびクチクラ層が減少することも確認しており[1]、これらの層が除去された箇所から蛍光分子が表皮細胞近傍に移行し、細胞内に導入されていると考えられる。しかし、蛍光分子が細胞壁および細胞膜を通過する機序は不明である。今回、クラスリン依存エンドサイトーシス阻害剤を用いて、植物細胞への分子導入機序におけるエンドサイトーシスの寄与を明らかにした。

**2.実験方法**　実験概略図を図 1 に示す。標的細胞はタバコ(*Nicotiana Benthamiana*)の葉を用いた。50 μM のエンドサイトーシス阻害剤 Tyrphostin A23(TCI: T3503)を照射予定箇所の周辺に滴下し、1 時間静置した後、プラズマを照射した。放電条件は印加電圧を正弦波とし、放電電流 0.5 A、周波数 20 kHz、照射時間は 13 ms とした。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)上に静置した。放電ギャップ長は、高圧側の針電極先端(Ni: ϕ 140 μm)から葉の表面まで 1 mm とした。プラズマ照射後、TE 溶液で希釈した 5 μg/μl 濃度の蛍光分子 FITC-Dextran(Sigma-Aldrich: FD2000S)を 6 μl 滴下し、1 時間静置した。その後流水にて 40 分間洗浄を行った後、顕微鏡にて蛍光観察を行った。

**3.結果と考察**　図 2 に導入処理後の蛍光観察結果を示す。Tyrphostin A23 による阻害処理を行わずにプラズマを照射した場合(コントロール)、照射直下より直径 1 mm から 1.5 mm の範囲に蛍光分子が導入されており、パズルピース状の細胞が表皮細胞、小さく薄く光っている細胞は表皮細胞下層にある柵状組織と考えられる。一方 Tyrphostin A23 による阻害処理を行いプラズマ照射した場合の導入面積は、約 10 %に減少した。本結果より、プラズマによるタバコ細胞への細胞膜通過プロセスは、クラスリン依存エンドサイトーシスが支配的であると考えられた。

**4.まとめ**　プラズマによるタバコ葉細胞への蛍光分子の導入機序は、主としてクラスリン依存エンドサイトーシスによる可能性が示唆された。

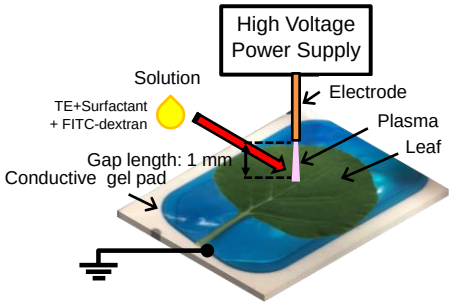
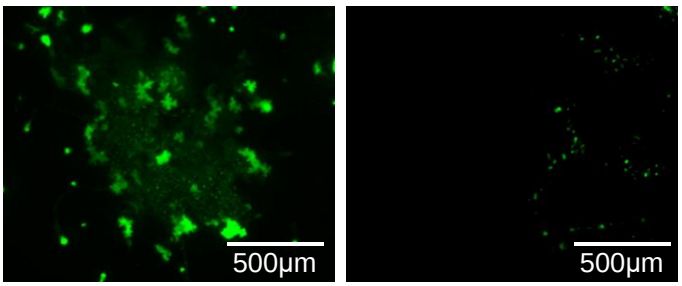



Fig.1 Schematic of plasma treatment.




(a) Control　(b) Tyrphostin A23

Fig.2 Fluorescent images after plasma treatment.

**謝辞**　本研究は愛媛大学リサーチユニットの支援によりおこなわれた。

**参考文献**

[1]　西他：第 79 回応用物理学会秋季学術講演会, 20p-146-5, (2018)