

プラズマ処理によるアサガオ未熟胚への蛍光分子導入

Molecule introduction into immature zygotic embryo of *Ipomoea nil* by plasma treatment

愛媛大院理工¹, パール工業², ワイズ³, 基生研⁴

^{○1} 大館 慶季, 池田 善久¹, 木戸 祐吾^{1,2}, 佐藤 晋^{1,3}, 星野 敦⁴, 神野 雅文¹

Ehime Univ.^{1,4}, Pearl Kogyo Co. Ltd.², Y's Corp.³, NIBB⁴

^{○1}Yoshiki Ohya¹, Yoshihisa Ikeda¹, Yugo Kido^{1,2}, Susumu Satoh^{1,3}, Atsushi Hoshino⁴, Masafumi Jinno¹

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

1. 序論 植物育種では、細胞組織への遺伝子導入後の個体再生が必要不可欠であるが、アサガオなど組織からの個体再生が困難な種も多数存在する。著者らは、未熟胚からの個体再生が可能なアサガオに着目し、プラズマ処理により未熟胚への遺伝子導入し、個体再生をする方法を検討している。本研究では遺伝子導入を想定し、プラスミドとほぼ同じ分子サイズの蛍光分子の導入を試みた。

2. 実験方法 図1 に実験の概略図を示す。標的にはアサガオ未熟胚を用いた。導入物質は蛍光分子(FITC-Dextran; 2 MDa)を用いた。未熟胚を3.5 cmディッシュに静置し、未熟胚から約1 mm直上に電極を配置した。印加電圧を変化させプラズマ処理を行った後、FITC溶液を10 μ l 滴下し一定時間静置した。流水で洗浄し、顕微鏡にて蛍光観察を行った。

3. 結果と考察 図2にプラズマ処理後の未

熟胚の蛍光観察結果を示す。図より、プラズマ未処理と処理時間が比較的短いサンプル(条件A)では、バックグラウンド以外で殆ど蛍光は確認できないが、処理時間の長いサンプル(条件B)では蛍光を確認した。本結果より、未熟胚への分子導入はプラズマ処理時間に依存性があることが示唆された。導入が確認できた条件Bの処理時間は、過去に導入に成功したタバコカルス[1]と比べて長い処理時間が必要となった。これは、アサガオ未熟胚はタバコカルスより表面が物理的に硬く、プラズマの電氣的または化学的要因が分子導入機構に作用するまでに時間を要したためと考えられる。

4. 結論 プラズマ処理によるアサガオ未熟胚への2 MDaのFITC-dextran導入を試みた結果、タバコカルスで導入を確認した処理時間以上で導入を確認した。

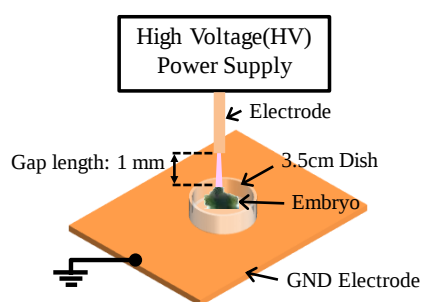


Fig.1 Schematics of plasma treatment.

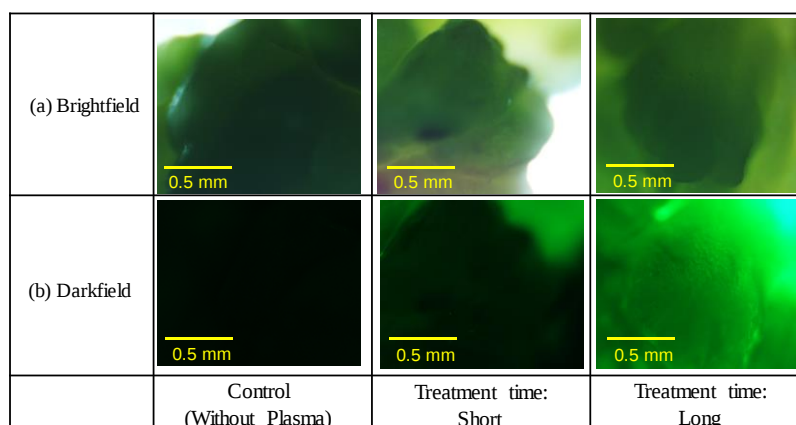


Fig. 2 Fluorescence observation results of FITC-Dextran. (Left: Brightfield, Right: Darkfield)

謝辞 本研究の一部は JSPS 科研費 19KT0035、愛媛大学リサーチユニットの支援を受けたものです。本研究に用いたアサガオ未熟胚は自然科学研究機構 基礎生物学研究所から提供を受けたものです。

参考文献 [1] M. Nishi et al., *SPP-36/SPSM-31*, PB-19 (2019)