

プラズマ処理が植物細胞組織表面に与える作用と導入機序との関係

Effects of plasma treatment on the surface of plant cell tissues and the relationship of it with the introduction mechanism

愛媛大院理工¹, パール工業^{1,2}, アイジーン^{1,3}

○池田 善久¹, 坂本 流¹, 濱田 侑希¹, 木戸 祐吾^{1,2}, 佐藤 晋^{1,3}, 神野 雅文^{1,3}

Ehime Univ.¹, Pearl Kogyo Co. Ltd.², i-Gene Corp.³

○Yoshihisa Ikeda¹, Ryu Sakamoto¹, Yuki Hamada¹, Yugo Kido^{1,2}, Susumu Satoh^{1,3},
Masafumi Jinno^{1,3}

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

1. 序論 農作物育種として遺伝子組換えやゲノム編集技術が期待されている。著者らはマイクロプラズマにより葉の表皮細胞やカルス細胞に対して蛍光分子およびCas9+sgRNAの導入に成功している[1,2]。一方で植物組織表面に存在するクチクラ等の疎水性ワックス層や、細胞間質、細胞壁が導入の障害となることが実験的に判明しているがマイクロプラズマによる分子導入機序は未解明であった。本研究ではプラズマ処理したタバコ葉表面およびタバコカルス細胞のSEM観察結果を元に、導入機序の検討を行ったのでその結果を報告する。

2. 実験方法 実験の概略図を図1に示す。標的としてタバコ葉(*Nicotiana benthamiana*)とカルス細胞(*Nicotiana tabacum*)を用いた。タバコ葉は導電性ゲル電極上に静置し、カルスは3.5 cmディッシュに入れ銅電極の上に静置した。電極先端から標的までの距離を1 mm としてプラズマ処理を行った。処理後に固定処理を行い、FE-SEMにて組織表面の観察を行った。

3. 結果と考察 プラズマ処理後の標的の観察結果を図2に示す。タバコ葉については、プラズマ未処理の場合はクチクラ層とみられる微粒子層が確認できるが、プラズマ処理後はそれらの粒子が無くなっており、プラズマ処理によって葉の表面状態が変化していることが確認できる。カルス細胞については、プラズマ未処理の場合は細胞壁表面に見られる粒子が隙間なく積層しているのに対して、プラズマ処理された細胞壁の表面は粒子に隙間が生じている。

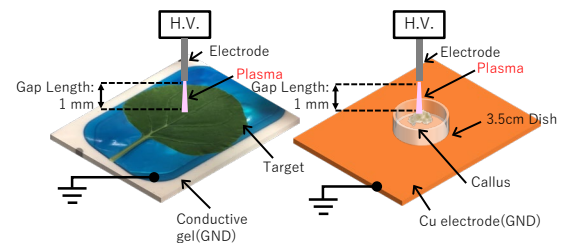


Fig.1 Schematic diagram of plasma treatment.

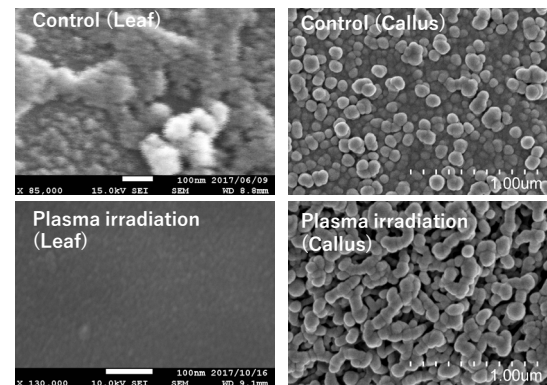


Fig.2 SEM observation results.

(Left: tobacco leaf, Right: tobacco callus)

これらの現象の発生と分子の導入には相関があることより、堆積層の減少および隙間が生じることで、導入分子が細胞膜まで到達でき細胞内への導入に至っていると考えられる。

4. 結論 プラズマ処理によりタバコ葉表面のクチクラ層の減少および細胞壁表面の堆積層に隙間が生じることを確認し、細胞内への分子導入と相関があることを確認した。

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).

[2]宮本 他, 第 82 回応用物理学会秋季学術講演会, 8p-Z07-11, (2020).

謝辞 本研究の一部は JSPS 科研費 (21H04455, 17H01068, 15H00896, 25108509)、愛媛大学リサーチユニットの支援を受け実施した。