

様式 C-7-1

平成19年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 1 4 6 0 3      2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 萌芽研究      4. 研究期間 平成18年度～平成19年度
5. 課題番号 1 8 6 5 6 2 4 4
6. 研究課題名 レーザー法を用いた植物への形質転換葉緑体の導入技術の開発

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
3 0 0 2 9 2 3 5	新名, 惇彦	バイオサイエンス研究科	教授

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
5 0 2 5 2 6 2 2	吉田, 和哉	バイオサイエンス研究科	准教授
8 0 2 8 3 9 3 5	加藤, 晃	バイオサイエンス研究科	助教

9. 研究実績の概要(国立情報学研究所でデータベース化するため、600字～800字で記入。図、グラフ等は記載しないこと。)

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

葉緑体ゲノムは植物の葉の細胞あたり約1万コピー存在し、これに外来遺伝子を導入すれば **gene dosage** 効果が期待でき、植物の劇的な改変が可能である。現在、葉緑体の形質転換は葉緑体が発達している緑葉に遺伝子銃でベクターを導入するが主流であるが、緑葉からカルス誘導・個体再生の系が使えるのはタバコ、レタス、ジャガイモなど数種の植物に限定されている。本研究では、再生が容易なカルスにレーザー加工技術により細胞壁を部分的に除去したスフェロプラスと、インビトロで外来遺伝子を導入した葉緑体を包摂したリポソームをレーザー照射により融合させ、容易に形質転換葉緑体をもつ植物体を得る普遍的な技術の開発を目的とする。

昨年度までにタバコ、*Nicotiana tabacum* **SR1** 細胞に UV レーザーを 0.1 秒間照射すると細胞膜に径数  $\mu\text{m}$  の穿孔が可能な条件を決定した。しかし、これでは細胞膜にも損傷を与え、細胞内容物が漏出した。今年度は 0.7M マンニトールを含む高張液にカルスを 30 分間浸漬し、顕微鏡下で原形質を分離を確認し、細胞膜から離れた細胞壁にレーザー照射し穿孔後、等張液に戻すことにより、細胞質成分の流出を防ぎ、かつ再増殖が可能であった。細胞集塊が大きければ再増殖効率は高いが、多くの細胞を的確に穿孔するには細胞数が少ない集塊を用いることが望ましい。そこで GFP 遺伝子を導入したカルスをペクトリアーゼで処理し、10 細胞程度の細胞小集塊にし、高張液処理、レーザー穿孔、等張液懸濁後、LS 培地での再増殖を検討した。細胞小集塊は再増殖しなかったため、GFP 遺伝子を導入していないタバコ細胞をナース細胞として用いたところ、増殖効率は低い GFP 遺伝子導入細胞が増殖することが確認された。

基本技術の一部が出来たので、今後のレーザーマニピレーターで葉緑体を導入する段階に至った。

※ 成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4 判縦長横書 1 枚)を添付すること。

10. キーワード

- |              |             |                   |
|--------------|-------------|-------------------|
| (1) タバコ      | (2) 葉緑体     | (3) 形質転換          |
| (4) スフェロプラスト | (5) GFP 遺伝子 | (6) レーザーマニピュレーション |
| (7) UVレーザー   | (8) ナース細胞   | (裏面に続く)           |

11. 研究発表(平成19年度の研究成果)

〔雑誌論文〕 計(0)件

著者名	論文標題		
雑誌名	巻・号	発行年	ページ
		□□□	

著者名	論文標題		
雑誌名	巻・号	発行年	ページ
		□□□	

著者名	論文標題		
雑誌名	巻・号	発行年	ページ
		□□□	

〔図書〕 計(0)件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	
	□□□		

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取得〕 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--