

植物培養細胞、植物組織へのデリバリー

Single Cellome™ Unit SU10

はじめに

SU10は、先端外径が最小数十nmの“ナノ”ピペット（ガラスキャピラリー）により、目的の物質を直接細胞（核、細胞質）内にデリバリーすることができる新規技術です。従来の方法では導入が難しい細胞への適用が期待されます。本アプリケーションノートでは、硬い細胞壁と高い膨圧を持つ植物細胞にSU10を用いて蛍光試薬を注入した事例をご紹介します。

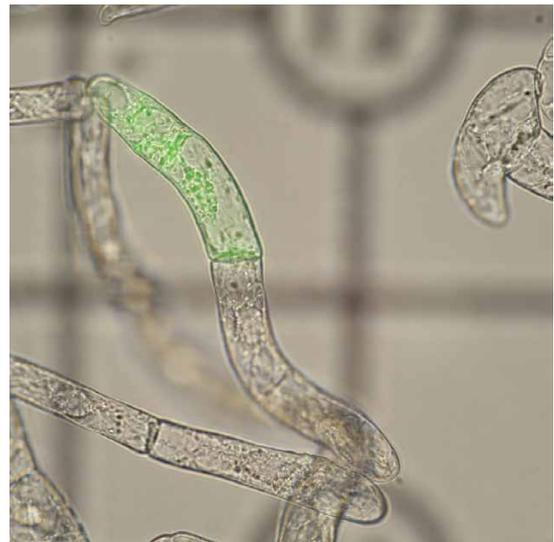


SU10による植物培養細胞へのデリバリー

デリバリー直後



1日後



Merge (Bright Field/FITC)

データご提供：栗原 大輔先生（名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 東山グループ）

実験手順

細胞：BY-2細胞（グリッド付きガラスボトムディッシュ）

注入試薬：5mg/mL FITC-dextran (MW 70,000)

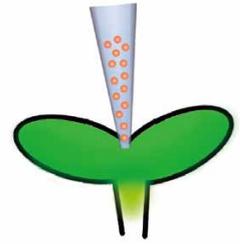
結果と考察

SU10によるデリバリーから1日後においても蛍光が観察され、細胞が生存していました。

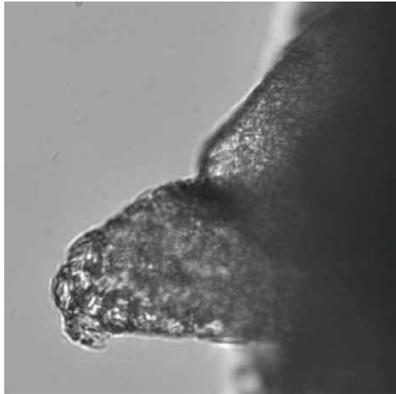
- ◆ ナノピペットは細胞壁をもつ植物細胞にも穿刺可能であり、その他の硬い細胞壁に覆われた細胞種にもSU10が適用できる可能性があります。
- ◆ 高い膨圧を持つ細胞に対しても、SU10によりデリバリー可能であることがわかりました。SU10の注入動作は電気化学的な機構に基づいており、空圧・油圧は使用しません。

SU10による植物培養細胞へのデリバリー

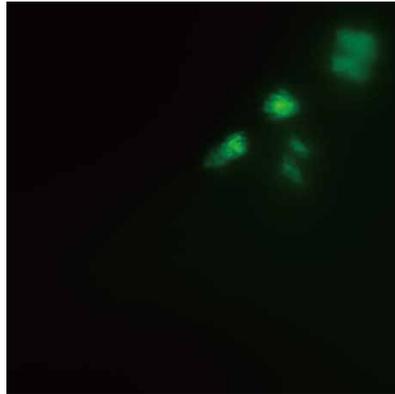
次に、SU10による植物個体の組織へのデリバリー事例をご紹介します。本技術を農作物のゲノム編集や植物由来の医薬品の開発などへ応用することで、SDGs（2飢餓をゼロに、3すべての人に健康と福祉を）への貢献が期待されます。



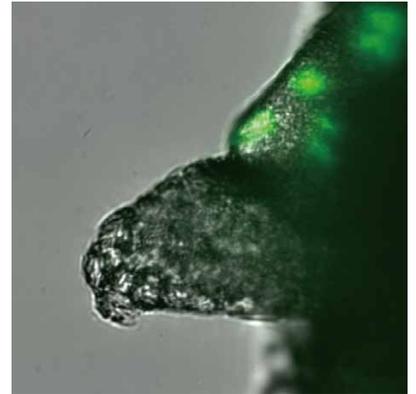
Bright Field



FITC



Merge (Bright Field/FITC)



実験手順

植物組織：カイワレダイコンの茎頂分裂組織（60mmディッシュに固定）

注入試薬：10mg/mL FITC-dextran (MW 70,000)

評価方法：蛍光顕微鏡で、SU10によりデリバリーした細胞のFITC蛍光シグナルを観察

結果と考察

SU10によるデリバリー後の茎頂分裂組織において蛍光が観察されました。

現時点での平均成功率は、31.1%（最大71.4%）です。

当社実験例 ナノピペット1本あたり5-13細胞にデリバリー、ナノピペット13本分の結果

◆ SU10を使用することで、様々な植物種において、組織中の特定の細胞内に直接デリバリーできる可能性があります。

既存の物質導入方法との比較

SU10自動ナノデリバリーのアプリケーションの一例である“ゲノム編集”にスポットを当てて、既存の植物細胞への物質導入方法であるアグロバクテリウム法、パーティクルガン法、マイクロインジェクション法とSU10を比較してみます。

■ アグロバクテリウム法

植物の種類や品種により、アグロバクテリウムの感染効率が異なるため、植物種ごとに遺伝子導入効率に差があります。また、タンパク質の直接導入には適用できません。

SU10は、物理的に目的物質をデリバリーするため、様々な植物種に適用できる可能性があります。また、タンパク質やCas9-sgRNA複合体など、幅広い物質を注入することができます。

■ パーティクルガン法

目的物質（DNAやタンパク質）を付着させた粒子をランダムに細胞内に導入するため、細胞ごとに物質導入量にばらつきが生じ、再現性の低下につながる可能性があります。

SU10は、細胞への注入量をソフトウェアでコントロールすることが可能です。注入液量は、1秒当たり数十fL（フェムトリットル、1fL=1×10⁻¹⁵ L）と推定しています。注入量は実験条件により変わる可能性があります。

■ マイクロインジェクション法

植物細胞のもつ高い膨圧のため、以下の現象が起こり得ます。

- ・ マイクロピペットを刺した際に、細胞内成分がピペット内部に逆流し注入できない。
- ・ マイクロピペットを抜いた時に、細胞内容物が細胞外に漏れ出る。

SU10は、下記理由により、ピペット内部への逆流や、細胞内容物の漏出を抑えられる可能性があります。

- ・ 先端外径が最小数十nmの“ナノ”ピペットを使用すること。
- ・ 注入動作は、空圧や油圧ではなく、電気的機構を利用すること。

標的のゲノムを編集した植物体を得るための選択肢として、細胞レベルでゲノム編集ツールを導入した後に個体を再生する方法と、個体レベルで直接ゲノム編集を実施する方法があります。ゲノム編集した細胞から個体を再生させる場合、植物体への再生が困難であったり、再生の過程で予期せぬ遺伝子変異が生じたりする問題があります。

一方、植物体を直接ゲノム編集する場合、ゲノム編集ツールの導入技術が課題となります。SU10を使用して、ゲノム編集ツールを植物個体へ直接デリバリーすることで、これらの課題を解決することができる可能性があります。

横河電機株式会社

〒180-8750 東京都武蔵野市中町 2-9-32

E-mail : SingleCell@cs.jp.yokogawa.com

URL : <https://www.yokogawa.co.jp/solutions/products-and-services/life-science/single-cellome/>



記載内容は、お断りなく変更することがありますのでご了承ください。
All Rights Reserved. Copyright © 2024, Yokogawa Electric Corporation.

[Ed:02/d]