

新種の植物を作る

遠山美保 西村圭織 原田綾希子

1. はじめに

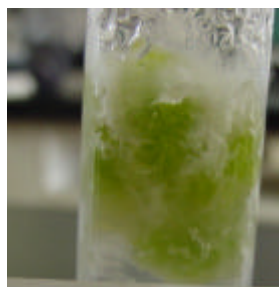
この研究は2種類の植物細胞を合成して培養し、新種の植物を作ろうというものです。実際にポマトはトマトとジャガイモの細胞融合によってつくられました。植物は赤バラとオレンジバラ、かすみ草とカーネーション、ブラックベリーとラズベリーの細胞を使用しましたが、組織培養がうまくいかなかったため、赤バラ、オレンジバラ、ブラックベリー、ラズベリーは赤パプリカ、黄パプリカ、いちご、生物室の雑草に変更しました。

2. 方法・結果

組織培養

- ・普通の植物はウイルスに感染している。
ウイルスフリーの植物を得るため、植物の茎や葉を細かく切断し、培地で培養する。

< 結果 >



カスミソウ(72日目)

カスミソウ、カーネーションはどちらもカルスができた。
カルス...細胞が根、葉などの働きを持っていない未分化な細胞のかたまり
特にカスミソウは大きく成長し、直径1cm×高さ2.5cmにもなった。

赤バラ、オレンジバラ、ブラックベリー、ラズベリーはあまり成長せず、実験に使う量に足りなかった。

細胞融合しやすい植物を調べたところ、パプリカが細胞も大きく実験しやすいとのことなので、赤パプリカと黄パプリカに変更。

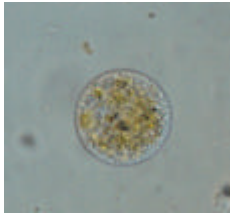
プロトプラストの単離

- ・酵素液を使い、細胞をばらばらにして一つずつに分ける。
- ・細胞壁を壊して、細胞質と核だけにする。

プロトプラスト...細胞の周りの壁(細胞壁)が取り去られ、細胞膜で覆われた細胞のこと。細胞壁があると融合時に影響を与えてしまう。

酵素液...マンニトール、セルラーゼ・オノズカ、マセロザイム、KCl、CaClを水に溶かしたもの。
細胞が一つずつに離れやすくしたり、細胞壁を溶かしたりする効果がある。
また、細胞の鮮度を保つことが出来るので、生きているのに近い状態で実験できる。

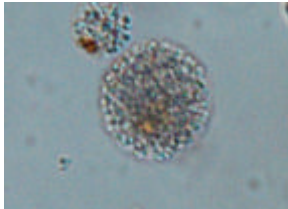
< 結果 >



カスミソウ、カーネーション、黄パプリカ、赤パプリカ、いちご、雑草のすべてにおいてプロトプラストが観察できた。

カスミソウ、カーネーションは細胞膜が破れてしまい、細胞質が流れ出てしまったものも多く見られた。

黄パプリカのプロトプラスト



赤パプリカ



カスミソウ



カーネーション



いちご

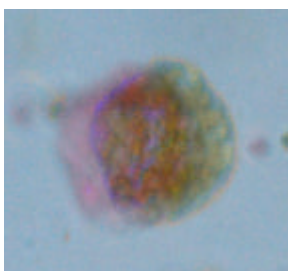


雑草

プロトプラストの融合

- ・ PEG(ポリエチレングリコール)溶液を使い、2種類のプロトプラストを融合する。

< 結果 >



赤パプリカと黄パプリカは融合が確認できた。

カスミソウとカーネーションは色素がなかったため、融合しているものはあったが、それがカスミソウとカーネーションの融合かどうかはわからなかった。(同じ種類で融合が起こることもある)

赤パプリカと黄パプリカの融合

プロトプラストの培養

- ・ 2種類のプロトプラストを混ぜ合わせて液体培地に入れ、培養する。(現在培養中)
- ・ 2ヶ月してコロニーが形成されたら、大きなフラスコの中の固体培地に移して培養する。
コロニー...2,3mmの細胞のかたまり
- ・ カルスが形成され、植物ができる。

3.実験の反省・考察

プロトプラストの分離において、最初は何も観察できなかった

- ・ 酵素処理の時間が長すぎるのではないか
- ・ 常温で酵素処理をしたため、最適温度ではなかったのではないか
- ・ 遠心分離機による分離が上手くいかなかったのではないか



酵素液に実験材料を入れ、減圧アスピレーターで酵素液を浸透させ、酵素処理の時間を4時間から **30分に短縮した**。その後、酵素の働きを高めるため **30度の湯に浸した**。またその液を遠心管に入れるのではなく扱いやすいエッペンドルフチューブにいれ、**遠心分離を行わなかった**。

観察できた

実験に使用する植物について

最初に使ったカスミソウ、カーネーション、イチゴは細胞に色がついていないため、融合のときに区別がつかなくなってしまった。

パプリカは果実の細胞を使用したため細胞が大きく、色もついていて観察しやすかった。

他にも、アロエ、トマト、スイカなどが適している。

細胞培養の医療への応用

抗体産生細胞と癌細胞を融合させて、単一の特異性をもつ抗体（モノクローナル抗体）を大量に細胞培養で生産できるシステムが開発された。

単クローン性抗体は化学的に純粋な抗体で、従来の動物の不均一な抗体よりも一般に力価が高い。

現在、単クローン性抗体は診断薬や治療薬および学術研究用に広く利用されている。

従来、マウスの細胞が利用されていたが、治療用として利用する場合、体内で免疫反応を誘発するという問題があった。そこで、ヒト型のモノクローン抗体の開発が

注目されている。

参考文献

図解組織培養入門（誠文堂新光出版）
遺伝 2002年7月号（株式会社 裳華房）
細胞工学

(<http://www.sc.fukuoka-u.ac.jp/bc1/Biochem/celltech.htm>)

3.実験の反省・考察

プロトプラストの分離において、最初は何も観察できなかった

- ・ 酵素処理の時間が長すぎるのではないか
- ・ 常温で酵素処理をしたため、最適温度ではなかったのではないか
- ・ 遠心分離機による分離が上手くいかなかったのではないか



酵素液に実験材料を入れ、減圧アスピレーターで酵素液を浸透させ、酵素処理の時間を4時間から **30分に短縮した**。その後、酵素の働きを高めるため **30度の湯に浸した**。またその液を遠心管に入れるのではなく扱いやすいエッペンドルフチューブにいれ、**遠心分離を行わなかった**。

観察できた

実験に使用する植物について

最初に使ったカスミソウ、カーネーション、イチゴは細胞に色がついていないため、融合のときに区別がつかなくなってしまった。

パプリカは果実の細胞を使用したため細胞が大きく、色もついていて観察しやすかった。

他にも、アロエ、トマト、スイカなどが適している。

細胞培養の医療への応用

抗体産生細胞と癌細胞を融合させて、単一の特異性をもつ抗体（モノクローナル抗体）を大量に細胞培養で生産できるシステムが開発された。

単クローン性抗体は化学的に純粋な抗体で、従来の動物の不均一な抗体よりも一般に力価が高い。

現在、単クローン性抗体は診断薬や治療薬および学術研究用に広く利用されている。

従来、マウスの細胞が利用されていたが、治療用として利用する場合、体内で免疫反応を誘発するという問題があった。そこで、ヒト型のモノクローン抗体の開発が

注目されている。

参考文献

図解組織培養入門（誠文堂新光出版）
遺伝 2002年7月号（株式会社 裳華房）
細胞工学

(<http://www.sc.fukuoka-u.ac.jp/bc1/Biochem/celltech.htm>)