

プロトプラスト（細胞融合）による新植物の開発過程

3年C組 山中祥五

3年B組 市瀬拓人

指導教諭 矢野幸洋

1. 要約

本校私たちサイエンス研究会生物部プロトプラスト班は、プロトプラストによる、植物細胞の分離と融合による新植物（細胞）の開発過程の研究を行いました。

キーワード プロトプラスト 細胞壁 分解酵素液 細胞融合

2. 研究の背景

生き物はすべて細胞でできていて、植物は全て幹細胞でできているため1つの細胞から1つの個体としての植物へ育てられる全能性という能力を持っていることがわかっています。トマトとポテトを混ぜてポマトという植物を作った人がいるという話を聞いて、自分たちで新しい植物を作ることにはできないかと考え実験によって実際にやってみることにしました。

3. 研究目的

植物同士を融合させるために細胞を、細胞壁のない「プロトプラスト」という状態にしないといけないので、今回の実験ではプロトプラストにする最も効率のよい方法を実験により考える。最終的には2つの植物からプロトプラストをとり、それを細胞融合しできた細胞を育てて新しい植物を作る。

4. 研究内容

今回は、細胞融合による新植物の開発の第一過程として、まず、プロトプラストの作成を試みた。その中でも、最も効率よくかつ、良好な状態のプロトプラストを製作するため、いくつかの方法で実験をした。まず、プロトプラストを作るには、1つの細胞をばらばらにする必要があるというのを基本とし、葉そのままの状態、葉をすりつぶしたもの、酵素液、簡易 DNA 抽出液、中性洗剤の方法でプロトプラストを作成し、観察した。液につけ、分解をさせたものについては、1時間後と1日後の状態を観察した。

(1) 仮説

簡易 DNA 抽出液は中性洗剤に比べ、食塩が入っており、更に、蒸留水で薄めているため、浸透圧が調節され、中性洗剤に比べ、より、良好な状態でプロトプラストを作ることが可能だと考えた。

(2) 研究方法

実験にはシロツメグサを用いた。様々な方法で実験をする必要があるので、次の方法で実験、観察を行った。

- 実験1 葉をそのままの状態を観察する
実験2 葉を乳鉢内で乳棒ですりつぶしたもの
実験3 DNAの簡易抽出液で細かく切った葉を1時間つけておいたもの
実験4 DNA抽出液につけて更に一日おいたもの
実験5 プロトプラストを作る方法で一般的な、酵素液で葉を細かく切って

1時間つけたもの

実験6 実験5の液にさらに1日つけておいたもの

<用いた薬品>

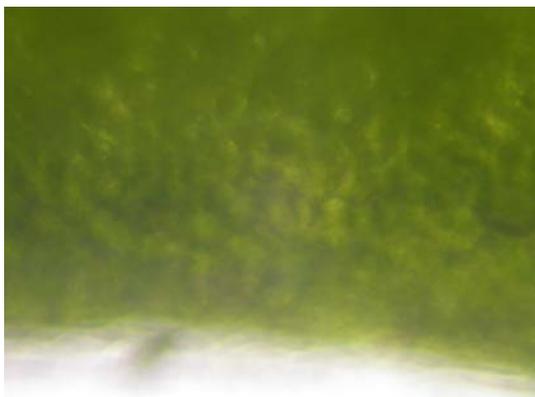
- DNA抽出液
- 食塩と台所用中性洗剤を混合したもの
- プロトプラスト酵素液
- セルラーゼ 1g、ペクチナーゼ 0.4g、マンニトール 13.2g に蒸留水を加えて 100ml にしたものである。

なお、これらの実験は25℃の恒温室の中で行った。

(3) 研究結果

	方法	時間	細胞壁の様子	細胞同士の変化
実験1	そのまま	なし	変化なし	変化なし
実験2	すりつぶし	なし	変化なし	バラバラになった
実験3	簡易DNA抽出	1時間	変化なし	変化なし
実験4	簡易DNA抽出	1日	変化なし	少しバラバラになった
実験5	酵素液	1時間	変化なし	変化なし
実験6	酵素液	1日	壊れていた	バラバラになった

実験1 葉そのままのもの



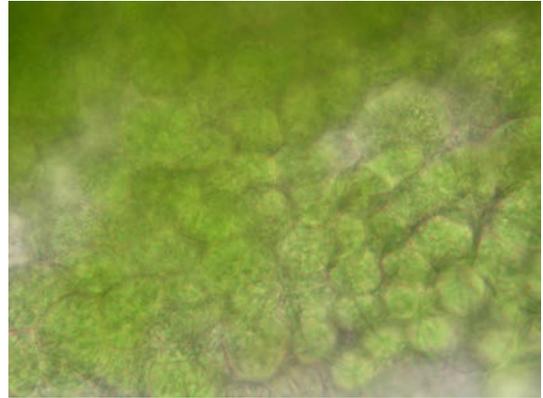
実験2 葉をすりつぶしただけのもの



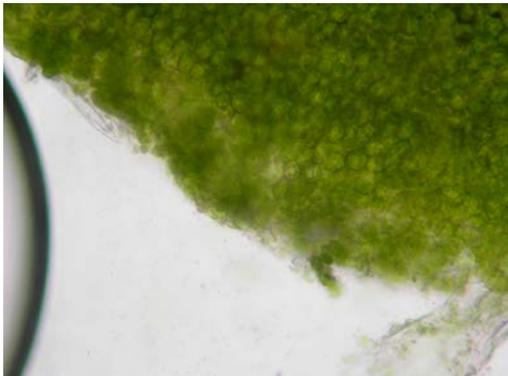
実験3 簡易DNA抽出液 1時間のもの



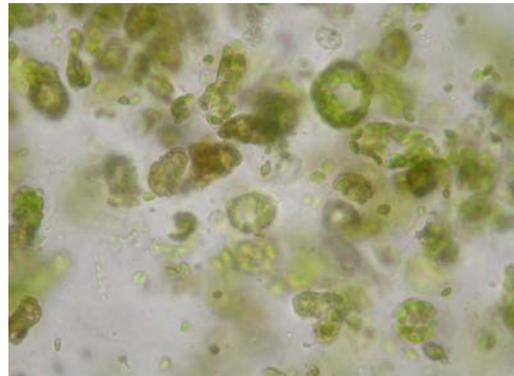
実験4 簡易DNA抽出液に1日つけておいたもの



実験5 酵素液に1時間つけたもの



実験6 酵素液に1日つけておいたもの



5. 考察

予想していた通り簡易 DNA 抽出液でも細胞同士をばらすことをできた。しかし、細胞壁を壊すことができるとまではいかなかった。

失敗の理由として考えられるのは、細胞壁を壊しつつ細胞のすべてを壊さない程度に薬品を調整することや食塩による浸透圧の調節は難しく、薬品の量のバランスが悪かったのではないかと考えられる。酵素液

を使う方法でプロトプラストを作るのは一般的な方法だったので比較的簡単にプロトプラストを作れることを実験によって確かめられた。

6. まとめと今後の課題

この実験を行うまでは、この先の実験も酵素液でやっていく予定だったが、簡易 DNA 抽出液による方法も洗剤、食塩、蒸留水だけを使う簡単な方法なため薬品の微調整を

してからこの方法でやっていこうと思う。
今後はプロトプラストを細胞融合する方法
や一つの細胞から植物を育てる方法を研究
していこうと思う。また、洗剤そのものを
使うのではなく界面活性剤のみでの実験も
行なおうと思う。

7. 参考文献・サイト

[1]「高等学校生物Ⅱ」、太田次郎・本川達
雄編、啓林館、p.101～103.

8. 謝辞

本研究では国立大学法人 奈良先端科学
技術大学院大学の高山教授、柴助教、岩野
助教から貴重なアドバイスをいただきまし
た。ありがとうございました。