2016 年 2 月 26 日

報道関係各位

透明作物を短時間で作製する手法“TOMEI”の開発

～作物の内部構造の解析やバイオマス定量解析が可能に～

東京理科大学
熊本大学
奈良先端科学技術大学院大学
科学技術振興機構

東京理科大学理工学部応用生物科学科 松永 幸大 教授、理工学部応用生物科学科大学院博士課程 2 年 長谷川 淳子、熊本大学大学院自然科学研究科 澤 進一郎 教授、奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 相田 光宏 特任准教授の研究グループは、作物を短時間で透明化する手法 TOMEI の開発に成功しました。

植物の組織や器官は様々な物質を含んでいるため、光を透過せず植物の内部構造を直接観察できません。そのため、植物の内部構造を解析するためには、多大な時間と労力をかけて切片を作製する必要があり、組織･器官構造を保持したまま直接作物の内部構造を解析する手法の開発が待たれていました。

今回、本研究グループは、日本の代表的な作物であるイネ、モデル植物であるシロイヌナズナなどをわずか数時間のうちに透明化する手法を開発しました。その結果、切片を作製することなく、葉、茎、根の表面から内部までの全細胞の形態や組織深部の維管束や葉肉組織の構造を素早く明瞭に観察することが可能になりました。また、線虫が感染した根に生じる根瘤内の細胞構造を観察することも可能になりました。

本成果により、植物の非破壊解析にかかる時間が大幅に短縮でき、作物の品質評価、品種改良、バイオマス定量解析、病害虫感染機構の解明など、農作物研究のスピードアップに大きく貢献することが期待されます。

※本研究成果は平成 28 年 2 月 29 日号の Oxford Journals の科学雑誌 Plant Cell Physiology（プラントセルフィジオロジー誌）電子版に掲載されます。

背　景

植物の品質を評価するためには、表面だけでなく、内部構造を解析する必要があります。植物細胞は細胞壁を持ち、葉緑素を持つ葉緑体や色素を蓄積した液胞などを含んでいます。この植物細胞が何層にも連なって植物組織や器官が形成されます。そのため、光が透過できない内部の細胞や構造を解析するためには、薄い切片状にする方法が一般的です。組織や器官を全体的に評価するためには、数十枚から数百枚の連続切片を作製する必要があり、膨大な労力と時間がかかっていました。近年、この問題を解決するために、組織や器官の構造を維持したまま、植物の内部構造を解析できる手法の開発が進められています。

内　容

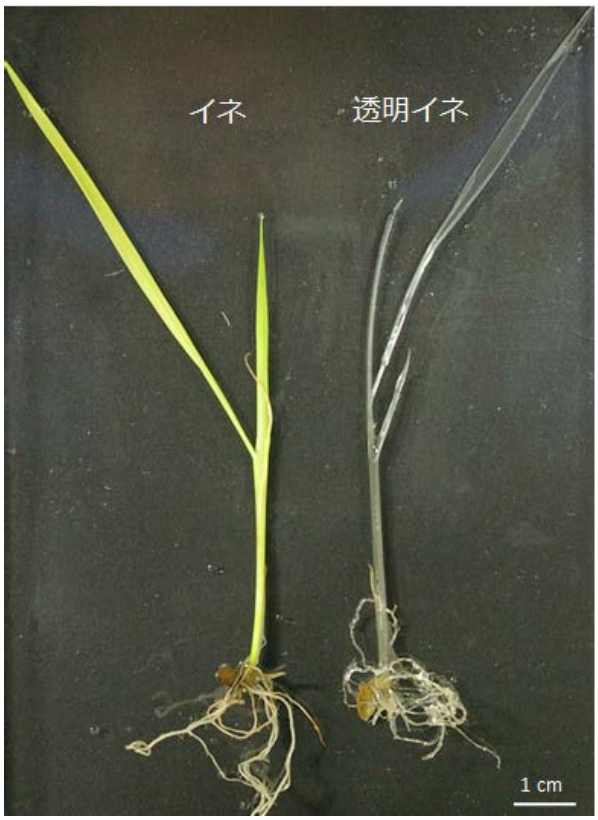
本研究グループは、短時間で植物の組織や器官をまるごと透明化する方法TOMEI(Transparent plant Organ MEthod for Imaging)を開発しました。これまでに開発された植物を透明化する手法では、例えば、透明シロイヌナズナの作製には、短くても 2-3 日かかるのに対して、TOMEI ならばわずか 2 時間で透明植物を作製できます。TOMEI は処理開始後、1 日以内に解析を終了できるだけでなく、長時間処理による形態変化や含有物質の劣化・消失を防ぐことができます。TOMEI は、無毒性のチオジエタノール溶液を主に使用するため、複数の溶液を組み合わせた複雑な作業工程を省いて透明化することができます。透明イネの葉は、切片を作製することなく無傷のまま表面から内部まですべての細胞を解析できます（図１）。コンフォーカル顕微鏡（3 次元的に蛍光像を取得できる顕微鏡）では通常約 30 μm の深度までしか蛍光像を得られませんが、TOMEI を組み合わせた場合、200 μm 以上の深度まで蛍光像を取得できます。これにより、内部構造である維管束（水や栄養の通り道）や光合成を行う葉肉組織の構造も、容易に観察できるようになります。

これらの TOMEI のメリットを生かし、DNA と細胞膜を染める蛍光色素による染色と TOMEI、もしくは細胞核と細胞膜において発現する蛍光タンパク質と TOMEI を組み合わせることで、器官深部の細胞の DNA 量と細胞の大きさを定量解析することができます。具体的な応用例としては、この定量解析により線虫が感染した根に形成された根瘤の深部にある巨大細胞は、DNA 量と相関して細胞体積が増大することを明らかにすることが出来ました（図２）。

本研究の社会的貢献

本研究成果により、切断したり傷つけたり孔をあけたりすることなく、数時間以内に、透明作物を作製し、内部構造を解析することが可能です。短時間の処理ですむため、形態変化や含有物質の劣化・消失なくより自然に近い状態で解析することが出来ます。本成果により、作物の細胞数や細胞体積を定量することによるバイオマスの評価、作物の内部構造に基づいた品種選抜や品種改良、作物内部に寄生している害虫の非破壊的検出など、農作物の解析・評価・定量に貢献することが期待されます。

本研究は、東京理科大学、熊本大学、奈良先端科学技術大学院大学との共同研究によるものです。また、国立研究開発法人 科学技術振興機構（JST） 戦略的創造研究推進事業 チーム型研究（CREST）「二酸化炭素資源化を目指した植物の物質生産力強化と生産物活用のための基盤技術の創出」および文部科学省ならびに日本学術振興会の科学研究費の助成を受けて実施した研究成果です。



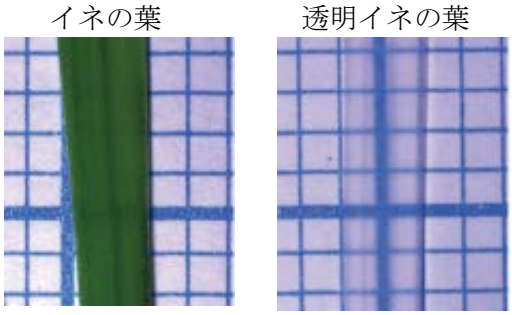


図１　TOMEI による透明イネの作製
TOMEI によりイネの葉に含まれる色素が抜け、光の透過率が増して、背景の紙が透けて見えることがわかる。

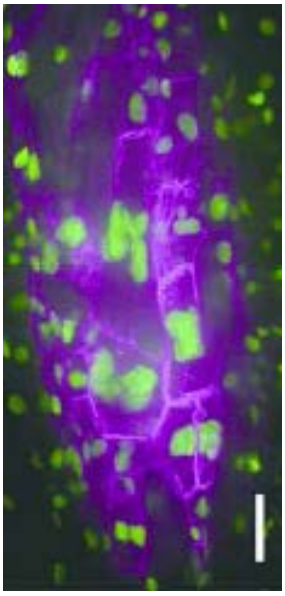


図２　TOMEI による根瘤内の巨大細胞の観察
細胞膜（マジェンタ）と細胞核（緑）を蛍光タンパク質により可視化したシロイヌナズナの根にセンチュウを感染させた。センチュウにより生じた根瘤を TOMEI により透明化して、根瘤内の細胞を観察した。根瘤内には、細胞核が大きくなり、複数になるとともに、細胞体積が増大した巨大細胞があることがわかる。切片を作製せずに、根瘤内の巨大細胞像を解析できた例は世界初のことである。スケールバーは 25 ミクロンを示す。

～本件に関するお問い合わせ～
東京理科大学　研究戦略・産学連携センター
TEL：03-5228-7440　FAX：03-5228-7441
E-mail：ura@admin.tus.ac.jp