

| | | | | | | |
|-------|---------|------|--------|--------|---------|--|
| 専攻 | 総合エネルギー | 学籍番号 | 863312 | 指導教官氏名 | 水野彰 助教授 | |
| 申請者氏名 | 川上友則 | | | | 小崎正花 教授 | |
| | | | | | 榎原建樹 教授 | |

論文要旨

| | |
|------|-----------------------|
| 論文題目 | 植物プロトプラスト用セルソータに関する研究 |
|------|-----------------------|

(要旨 1,200 字以内)

近年、遺伝子導入や融合等の操作による植物品種改良の研究において、有用プロトプラストの高速度分離技術の重要性が高まっている。セルソータはこのための有用な装置ではあるが、現時点では機械的強度の小さい植物プロトプラストの高速度選別は困難である。その原因は、ノズルから噴出される際、および液滴回収される際にプロトプラストが破壊されるためである。我々はノズル部と捕集部に改良を加え、植物プロトプラストを破壊なしに高速度選別可能であるセルソータの開発を行なった。また、その装置を用いて融合プロトプラスト等の有用プロトプラストの高速度選別を行ない、この装置の有用性を示した。以下にそれらの研究成果を示す。

まず、セルソータ捕集部のプロトプラスト破壊を低減させるため、ソフトランディング式捕集法とパラフィルム捕集法を考案し、これらの捕集法におけるプロトプラスト破壊の低減効果を従来型セルソータの試験管捕集法と比較した。その結果、パラフィルム捕集法およびソフトランディング式捕集法を用いた場合では、捕集時のプロトプラスト破壊をほとんどないことが判明した。実用性を考慮すると、パラフィルム捕集法が最も植物プロトプラスト選別に適した捕集法であると考えられる。

次に、セルソータノズル部におけるプロトプラスト破

壊の性質をノズル出口液流速、ノズル口径およびノズル
絞り角度に対して実験的かつ理論的に求め、選別速度向
上法の検討を行なった。その結果、セルソータの選別速
度はノズル口径や液流速に影響されず、プロトプラス
5 の直径、およびプロトプラスの破壊膜張力（破壊を引
き起こす膜張力）で決定されることが判明した。また、
選別速度向上法はプロトプラス径を小さくすること、
およびプロトプラスの破壊膜張力を大きくすることが
有効であることも判明した。

さらに高い選別速度を得るため、大口径ノズルから噴
10 出した液柱を空気流によって絞り込むエアースペースノズ
ルと呼ばれるノズルを開発した。このノズルの液柱径特
性、液柱流速特性、滴化可能周波数特性、ノズル通過率
特性から、このノズルは植物プロトプラスをほとんど
破壊なしに噴出でき、かつ高い周波数で液滴化可能であ
15 ることが判明した。

以上の研究より、他研究で3.0kHzが限界であったセル
ソータの選別速度がパラフィルム捕集器とエアースペース
ノズルの開発によって15.0kHzまで向上できた。

この改良型セルソータを用いて、FITCとRITC、
20 FITCとクロロフィルによる異種間融合プロトプラス
トの高速選別を行なった。この操作によって1%だった
異種間融合プロトプラスは80~100%に濃縮すること
ができた。さらに、FDA染色を用いた生存プロトプラ
ストの解析・選別を行ない、数%の生存プロトプラス純
度を60%以上に濃縮することができた。