

Title	Construction of Culture Strategy for Plant Hairy Roots Considering Hydraulic Stress against Root Tip Meristems
Author(s)	日高, 由雄
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/42436">http://hdl.handle.net/11094/42436</a>
DOI	
rights	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	ひ たか よし お 日 高 由 雄
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学位記番号	第 1 5 6 3 9 号
学位授与年月日	平成12年6月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科化学系専攻
学位論文名	Construction of Culture Strategy for Plant Hairy Roots Considering Hydraulic Stress against Root Tip Meristems (先端分裂組織に対する流体ストレスを考慮した植物毛状根の培養手法の構築)
論文審査委員	(主査) 教授 田谷 正仁  (副査) 教授 駒沢 勲 教授 平田 雄志 講師 紀ノ岡正博

### 論文内容の要旨

植物組織培養技術の進化に伴い、植物細胞固有の有用物質を生産する試みがなされている。中でも、植物毛状根は、従来用いられてきたカルス細胞に比べ遺伝的安定性、繁殖性等に優れており、有望な培養素材として注目されている。植物毛状根の培養においては、リアクター中の担体に毛状根を固定化して増殖させる形式がとられる。その際、酸素など栄養源の供給操作のための液流れは、同時に剪断応力を生じ、毛状根の生理状態に大きな影響を及ぼす。本研究では、リアクター内の液流れによる剪断応力を定量的に評価するとともに、毛状根細胞、特に先端分裂組織の剪断応力に対する感受性を考慮した効率的培養手法の構築を目的とした。

第1章では、毛状根の形態的特徴から、生長点（先端分裂組織）に着目し、その伸長および分枝による生長点数の増加が、毛状根全体の増殖速度を支配する重要な因子であることを明らかにした。また、毛状根表面に存在する根毛を観察し、その形状効果を考慮することにより、リアクター内の毛状根充填層の圧力損失を評価する手法を確立した。第2章では、レッドビート毛状根の細胞表面における剪断応力を推算し、この物理的因子と細胞の生理的因子（増殖および色素生産）の関係を明確にした。第3章では、毛状根の各培養フェーズにおける剪断応力の効果を詳細に検討し、培養初期において、生長点の剪断応力に対する感受性が特に高いことを見出した。さらに、培養初期に剪断応力負荷を低減した馴化期間を設けることにより、その後、生長点が剪断応力に対する耐性を獲得し、効率的な増殖が達成されることを二段階培養により実証した。上記で得られた結果に基づいて、第4章では、培養初期における状態変数として細胞量とpH変化に着目して、毛状根培養にファジィ制御を適用した。その結果、接種された毛状根に固有な馴化期間に対応しつつ、培養初期の細胞の状態に応じて液流速を制御する培養操作手法の確立を行った。

### 論文審査の結果の要旨

植物組織培養技術の進展に伴い、植物細胞固有の有用物質を *in vitro* で生産する試みがなされている。中でも植物毛状根は、遺伝的安定性や繁殖性等に優れており有望な培養素材として注目されている。

本論文では先ず、根の状態で複雑な形態をとりつつ生育する植物毛状根の生長点（先端分裂組織）に着目し、生長点の伸長および分枝による生長点数の増加が、毛状根全体の増殖速度を支配する重要な因子であることを明らかにし

た。さらに、リアクター内の液流れに対して、毛状根表面に存在する根毛の形状効果を考慮することにより、毛状根充填層の圧力損失、さらには細胞表面における剪断応力を評価する手法を提案し、この物理的因子と細胞の生理的因子の関係を明確にした。次に、毛状根培養の各フェーズにおける剪断応力の効果を詳細に検討し、培養の初期段階において、生長点の剪断応力に対する感受性が特に高いことを見出した。さらに、培養初期に剪断応力負荷を低減した馴化期間を設けることにより、生長点が剪断応力に対する耐性を獲得し、効率的な増殖が達成されることを二段階培養により実証した。これらの実験事実に基づいて、培養初期における細胞増加量と pH 変化を状態変数として採用し、毛状根培養にファジィ制御を適用した。その結果、接種された毛状根に固有な馴化期間を特定するとともに、培養初期の細胞の状態に対応しつつ液流速を制御する培養操作法を確立した。

以上のように、本論文は、毛状根培養におけるリアクター内の液流れによる剪断応力を定量的に評価するとともに、この剪断応力に対する先端分裂組織の感受性を考慮した効率的な培養手法を構築し、当該分野の進展に大きく寄与するものである。博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。