

Establishment of the method to prepare gametolysin from *Chlamydomonas reinhardtii*.

単細胞緑藻クラミドモナスのガラスビーズ法を用いて DNA を導入するには、細胞をプロトプラスト化することが必要である。そのためには、クラミドモナスが接合時に分泌する細胞壁溶解酵素であるガメトライシンを利用した細胞のプロトプラスト化が有効であることが分かっている。高濃度のガメトライシン分泌液を得るには、どれ位の時間接合させておくかが重要な要素となる。活性の高いガメトライシン液を調整できればプロトプラスト細胞が高効率で得られ、ガラスビーズ法の形質転換の効率化が期待できる。調整したガメトライシン液の比活性は、栄養細胞と一定時間反応させた後、界面活性剤を添加することによりプロトプラスト化された細胞のみを溶解させ、遠心して溶解しなかった細胞を沈殿させた後に、i) 沈殿物の体積量を比較する、又は、ii) 上清のクロロフィル量を分光光度計で測定することで求めた。このようなアッセイにより、接合後、どれ位の時間が経過した後に培養液を回収するのが最適かを決定した。