

(背景)大型プラスミド pGETS103(約 15kb)を枯草菌に形質転換する際に通常のコピペントセルを用いた形質転換法では形質転換効率が低いために容易に形質転換体を得ることができなかった。そこで細胞に高電圧ショックを与え細胞膜に孔を開け DNA を直接入れるエレクトロポレーション法による形質転換を試み、形質転換効率が良い条件を調べた。

(方法)まず始めに代表的な中型プラスミド pHY300PLK(4.87kb)を用いて枯草菌 168trpC2 株の通常の方法による形質転換とエレクトロポレーションによる形質転換を行った。その後中型プラスミドによる形質転換の最適条件を用いて大型プラスミド pGETS103 による枯草菌 168trpC2 株の形質転換を行った。

(結果) 中型プラスミド pHY300PLK をエレクトロポレーション法にて形質転換すると通常の方法に比べ約 10 倍以上の形質転換体を確認できた。エレクトロポレーションの最適条件は、プラスミド濃度 240ng/0.1ml、電圧 2.5kv、抵抗値 186 Ω、30%PEG(ポリエチレングリコール)であった。PEG のない条件では形質転換率は著しく低下した。通常の方法、エレクトロポレーション法で効率的であった条件にて大型プラスミド pGETS103 による 168trpC2 株の形質転換を行ったところ、エレクトロポレーション法では形質転換体を確認する事ができたが、通常の方法では形質転換体を確認する事ができなかった。この事より大型プラスミドを枯草菌に形質転換をする際にはエレクトロポレーション法が有効である事が確認できた。