

細胞壁分解酵素の処理時間差によるクラミドモナスの形質転換効率の比較

Comparison of transformation efficiency due to the difference of gametelysin treatment duration in *Chlamydomonas*

ガラスビーズ法を用いてクラミドモナスを形質転換するには、細胞が細胞壁を持っていない状態、プロトプラスト化されている必要がある。クラミドモナスを窒素源が含まれない培地で培養することにより生殖細胞化して+株と-株を接合させると、培養液中に細胞壁分解酵素（ガメトライシン、以下 GLE）が分泌される。この酵素を利用してクラミドモナス体細胞をプロトプラスト化することが出来る。

一定時間 GLE で処理した 19P(1030)[細胞壁を持つ株]、CC400[僅かに細胞壁を持つ突然変異株]、CC503[完全に細胞壁がない突然変異株]の 3 種類のクラミドモナスを用いて、薬剤耐性を賦与する DNA1 μ g を用いた時のそれぞれの形質転換効率を比較した。

その結果、形質転換効率は CC400 \geq 19P(1030)であり、CC503 では殆どコロニーが見られなかった。この結果は CC503 が全く細胞壁をもっておらず極端に刺激に弱い株なため、導入行程中に殆どの細胞が損壊したことが原因だと考えられる。対して CC400 と GLE 処理をした 19P (1030) はプロトプラスト状態でも僅かな細胞壁を持っているので、ガラスビーズ処理に耐えうる細胞状態だったと考えられる。この事を踏まえて、19P(1030)をガラスビーズ法に適したプロトプラスト状態にするのに最適な GLE の処理時間を検討した。19P(1030)はより長くガメトライシンで処理していたものほど形質転換効率が上がると予想している。