

卒業論文要旨

アグロバクテリアを用いたクラミドモナスの形質転換

1150230 島田美佳

Transformation of *Chlamydomonas* mediated by *Agrobacterium* infection

Mika Shimada

現在、クラミドモナスの形質転換法として高圧電場を利用して有用遺伝子を目的の植物細胞に直接導入する電気穿孔法が用いられている。しかし、電気穿孔法では細胞壁があると形質転換効率が極端に低くなる等の欠点がある。今回行ったアグロバクテリウム法はこれ等の欠点がなく、陸上植物でも広く用いられている形質転換方法の1つである。この方法は、元々はアグロバクテリウムが感染する双子葉植物にしか使用できなかったが、近年、アセトシリンゴンさえ添加すれば、双子葉に限らず単子葉植物や菌類、ヒト細胞でもアグロバクテリウムを介した形質転換が可能であることが分かっている。しかし、クラミドモナスを使ってアグロバクテリウム法による遺伝子導入を行うと、薬剤耐性のコロニーが生じるが3-4週間後には薬剤耐性を失ってしまう。これは、アグロバクテリアからクラミドモナスへ T-DNA は移行しているがクラミドモナスのゲノム DNA へ組み込みが行われておらず、細胞分裂を介して消失してしまう為と考えられる。本実験においては、外来 DNA のゲノムへの組み込みに関与する酵素はゲノム DNA の切断点を修復する酵素と同じということを考慮して、クラミドモナスのゲノム DNA を UV 照射や Zeocin 処理で切断し、限られた数の切断を人為的に導入することで、これらの酵素の発現を活性化させ外来 DNA の組み込みがスムーズに行われる可能性を検討した。