

細菌も室温がお好き

天貝 啓太

グラム陰性菌に、プラスミドなどの遺伝子を導入する作業は、分子生物学分野ではごくごくありふれたものである。その中でも導入効率の良い方法として、電気穿孔法（エレクトロポレーション）が挙げられるが、そのためのコンピテントセル作製法については誰も疑問を持たず、集菌後の菌体を冷却して（氷上で）作製している。

筆者らはこのような背景の中、2006年に発表された *Pseudomonas* 属のエレクトロコンピテントセル調製法に疑問を持った。何故ならこの論文中には、“氷上で” という文言が一言も無く、全て室温にて調製を行っていたからである。そこで彼らは、試しに大腸菌のエレクトロコンピテントセルを、室温にて調製してみた。すると驚くことにその形質転換効率は、氷上で調製したもの比べて10倍以上に跳ね上がったのである。

顕微鏡でこれらのコンピテントセルを観察してみると、室温で調製したものは、滑らかな細胞表面を持っており、逆に氷上で作製したものは収縮していた。さらにエレクトロポレーションを行うと、氷上で作製したものの殆どが溶菌してしまった。つまり、グラム陰性菌のエレクトロコンピテントセルは、室温で調製するのが正しい方法だったのである。

紹介論文

Room temperature electrocompetent cells improve DNA transformation and recombineering efficiency

Qiang Tu, Jia Yin, Jun Fu, Jennifer Herrmann, Yuezhong Li, Yulong Yin,

A. Francis Stewart, Rolf Müller & Youming Zhang

Sci. Rep. **2016**, *6*, 24648.

Abstract

Bacterial competent cells are essential for cloning, construction of DNA libraries, and mutagenesis in every molecular biology laboratory. Among various transformation methods, electroporation is found to own the best transformation efficiency. Previous electroporation methods are based on washing and electroporating the bacterial cells in ice-cold condition that make them fragile and prone to death. Here we present simple temperature shift based methods that improve DNA transformation and recombineering efficiency in *E. coli* and several other gram-negative bacteria thereby economizing time and cost. Increased transformation efficiency of large DNA molecules is a significant advantage that might facilitate the cloning of large fragments from genomic DNA preparations and metagenomics samples.