

ABSTRACT

Chlorella vulgaris is a simple and common green microalga which can be used as a heterologous system for genetic transformation over *Escherichia coli*, yeasts, cultured mammalian and insect cells due to its ease of culture and eukaryotic features. The fusion plasmid pCAT-HBSAg has an insertion of a 1.38 Kb sized hepatitis B surface antigen (HBSAg) gene located at the down stream of the chloroamphenicol acetyl transferase (CAT) gene, which is driven by the SV40 promoter. The pCAT-HBSAg vector was introduced into *C. vulgaris* using the Biolistic PDS 1000/He system under the rupture-disc pressures of 900 psi and 1100 psi at distances of 6 cm and 9 cm. Transformants were first selected using 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of chloroamphenicol and further verified via PCR, Southern Blot, RT-PCR and Western Blot. The transformed clones were maintained in medium devoid of chloroamphenicol by serial subcultures. The presence of the hepatitis B surface antigen gene in transformed *C. vulgaris* was detected until the 92nd cell generations (day 184) via PCR. The two way ANOVA test performed using PCR analysis, showed that there were no differences in the transformation efficiency when different distances ($p < 0.05$; $p = 0.6523$) and rupture disk pressure ($p < 0.05$; $p = 0.8641$) or even the combination of both pressure and distance ($p < 0.05$; $p = 0.1056$) that were used during bombardment.

ABSTRAK

Chlorella vulgaris merupakan mikroalga yang boleh digunakan sebagai sistem heterologos untuk transformasi genetik. Mikroalga ini adalah lebih baik daripada *Escherichia coli*, yis, kultur sel mamalia dan kultur sel serangga kerana teknik pengkulturannya yang mudah serta ia memiliki ciri-ciri sel eukaryotik. Plasmid gabungan pCAT-HBSAg mempunyai gen hepatitis B surface antigen (HBSAg) yang bersaiz 1.38 Kb yang terletak dibawah gen chloroamphenicol acetyl transferase (CAT) yang dikawalatur oleh promoter SV40. Vektor pCAT-HBSAg telah dimasukkan ke dalam sel *C. vulgaris* dengan menggunakan sistem Biolistic Bio-Rad PDS 1000/He dibawah tekanan 900 psi dan 1100 psi serta jarak 6 cm dan 9 cm. Selepas transformasi, klon *C. vulgaris* telah dipilih dengan menggunakan 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ chloroamphenicol, dan seterusnya klon tersebut telah diuji dengan PCR, Southern Blot, RT-PCR dan Western Blot. Setelah mengenalpasti klon-klon yang mempunyai gen HBSAg, ia telah di kultur pada masa ke masa dalam media yang tidak mengandungi chloroamphenicol. Gen HBSAg telah berjaya dikenalpasti menggunakan PCR sehingga generasi sel ke 92 (hari 184). Ujian ANOVA dua hala menggunakan data PCR tidak menunjukkan sebarang perubahan dalam ujian keberkesanan transformasi, apabila jarak ($p < 0.05$; $p = 0.6523$), tekanan ($p < 0.05$; $p = 0.8641$) yang berbeza atau kombinasi kedua-dua parameter transformasi tersebut ($p < 0.05$; $p = 0.1056$) digunakan.