

Plus-Trans藻类转化试剂 使用说明书

产品描述

| 货号 | 名称 | 规格 | 价格 |
|--------|-------------------|-------|---------|
| 180701 | Plus Trans 藻类转化试剂 | 250ml | 1650.00 |

在科研中，将外源性 DNA 引入单细胞绿藻(莱茵衣藻)，会受到生物体刚性细胞壁的阻碍，导致转化失败或者效率很低。使用玻璃珠搅拌、电穿孔和微粒轰击等各种方法可以用于转化莱茵衣藻，但是转化效率非常低。Plus Trans 转化试剂有助于在电转化操作中将 DNA 递送到细胞中，可以有效提高转化效率。

- 对于细胞壁 (+) 藻株获得 >1000 转化体/ μg DNA
- 对于细胞壁 (-) 藻株获得 >100 转化体/ μg DNA
- 可转化环状或线性 DNA 或 PCR 片段

实验步骤（以使用 BioRad® Gene Pulser® II转化莱茵衣藻为例）

1. 复活1瓶冷冻莱茵衣藻细胞并接种到200 mL的TAP培养基中。在标准条件下培养细胞并保持监测其浓度3天。
2. 当细胞浓度达到 1×10^6 - 2×10^6 个细胞/mL时，2500 rpm离心5分钟收获细胞。弃去上清液，尽可能小心地除去所有液体。
注意： 细胞必须处于早期对数阶段并温和收获。如果细胞浓度为 $<1 \times 10^6$ 个细胞/mL，您仍然可以收获细胞而不会显著影响转化效率。
3. 将细胞沉淀重悬于10mL Plus Trans转化试剂中，并以2500 rpm离心5分钟。弃去上清液，并尽可能小心地除去所有液体。
4. 将沉淀再次重悬于10mL Plus Trans转化试剂转化试剂中，并以2500 rpm再次离心5分钟。

5. 将细胞重悬于Plus Trans转化试剂中，至终浓度为 2×10^8 - 3×10^8 个细胞/mL。
6. 每250 μ L细胞悬液加入2-4mg线性化 DNA，并在4 $^{\circ}$ C下孵育5分钟。
7. 在BioRad[®] Gene Pulser[®] II上设置电穿孔参数如下：

| 电压 | 电容 | 电阻 |
|------|------------|--------------|
| 500V | 50 μ F | 800 Ω |

8. 在电穿孔前将250 μ L细胞DNA混合物转移到冰冷的比色皿中（预先冰上放置）。
9. 使用适当的设置对细胞进行电穿孔。通常，电脉冲持续时间约为30毫秒。
10. 电穿孔后，让细胞在冰上放置15分钟。
11. 在室温下将细胞转移到含有10mL TAP-40mM蔗糖溶液的50mL锥形管或烧瓶中。
12. 将细胞放入藻室中并孵育14-16小时。
13. 2500rpm离心5分钟，收集细胞，弃去上清液，并将沉淀重悬于200 μ L TAP培养基中。
14. 将细胞铺在选择性TAP琼脂平板上，并在藻室中孵育5-7天。

注意： 菌落产量取决于质粒 DNA 的大小，选择标记和其他因素。