

植物原生质体转染试剂盒

产品编号	产品名称	包装
R33157-100T	植物原生质体转染试剂盒	100T
R33157-500T	植物原生质体转染试剂盒	500T

产品简介:

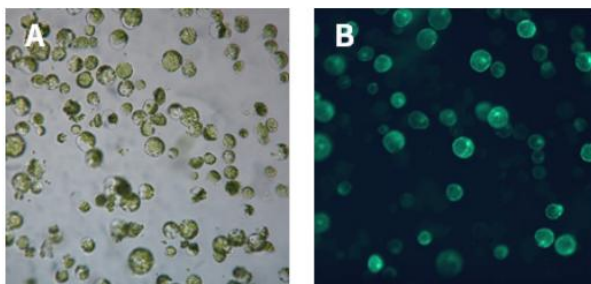
源叶的植物原生质体转染试剂盒(Plant Protoplasts Transfection Kit), 可用于将质粒、Cas9/sgRNA 等蛋白和 RNA 转染进入植物原生质体内, 经转染的植物原生质体经过一定时间培养后, 可用于检测外源基因的表达和功能, 或者转染后的基因下调、基因敲除或基因编辑效果等。

对于拟南芥原生质体, 使用本试剂盒转染质粒后通常 2-6 小时可以检测相关基因的转录变化(mRNA 等 RNA 的变化), 通常 2-16 小时后可以检测到相关蛋白表达的变化, 通常 24 小时可以检测到基因编辑的效果。

植物原生质体是开展一系列植物细胞研究的重要材料, 可以用于如将 DNA、RNA 或者蛋白通过电击法(electroporation)、显微注射(microinjection)或聚乙二醇法介导的转染(PEG-mediated transfection)等。本试剂盒采用的是一种优化的聚乙二醇转染方法, 借助聚乙二醇短时间内对原生质体产生的冲击效应, 使质粒 DNA、RNA 或蛋白得以进入原生质体, 具有使用便捷、转染效率高等优点。

本试剂盒可与植物原生质体分离试剂盒配合使用, 完成一些模式生物如拟南芥原生质体外源基因的短时间或长期表达或者内源基因的关闭、下调或编辑等。

使用本试剂盒将植物 EGFP 表达质粒转染拟南芥原生质体的效果如图 1 所示。图中可见可以获得非常高的转染效率。





上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

图 1. 使用植物原生质体转染试剂盒(Plant Protoplasts Transfection Kit)转染拟南芥原生质体的效果图。对于使用植物原生质体分离试剂盒获得的拟南芥叶片原生质体, 参考如下体系制备转染试剂溶液: 称取 0.48g 转染试剂于 2ml 离心管中, 加入 300 μ l 溶液 A、480 μ l 溶液 B, 颠倒混匀, 使转染试剂充分溶解后备用(足够用于 10 个后续的 10 个样品的转染)。在 2ml 的圆底离心管中加入 20 μ g p35SPDK-EGFP-Flag (植物用绿色荧光蛋白), 加入 100 μ l 制备好的原生质体, 轻柔混匀后加入 110 μ l 当日配制好的转染试剂溶液, 轻柔混匀, 室温静置 5min 后加入 440 μ l 终止液, 轻轻颠倒混匀, 室温 100g 离心 1min, 去除上清, 再加入 0.5ml 终止液, 轻柔重悬原生质体, 室温 100g 离心 1min 后, 尽量去除上清, 收集原生质体。加入 1ml 培养液, 小心重悬原生质体后将其平置 25°C 培养过夜(约 16h), 次日于荧光显微镜下检测 EGFP 荧光信号。上图为实际检测的明场和荧光照片。

一个小包装(R33157-100T)的本试剂盒可以用于相当于 6 孔板 100 个孔的样品, 12 孔板 200 个孔的样品, 或 24 孔板 400 个孔的样品的转染。一个中包装(R33157-500T)的本试剂盒可以用于相当于 6 孔板 500 个孔的样品, 12 孔板 1000 个孔的样品, 或 24 孔板 2000 个孔的样品的转染。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R33157-100T	转染试剂	5g
	溶液 A	3ml
	溶液 B	5ml
	终止液	100ml
	培养液	100ml
——	说明书	一份

产品编号	产品名称	包装
R33157-500T	转染试剂	25g
	溶液 A	15ml
	溶液 B	25ml
	终止液	500ml
	培养液	500ml
——	说明书	一份

保存条件:

-20°C 保存, 至少一年有效。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

注意事项:

请按照试剂盒要求的保存条件存放相关试剂, 使用时请将各溶液充分融解并混匀。

本试剂盒使用时, 需要按照无菌操作要求规范进行, 避免微生物污染。培养液可适当分装后保存。

本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。

为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 转染试剂溶液的配制。

对于原生质体样品(每个样品为 2 万个原生质体)的质粒转染, 参考下表根据样品量配制转染试剂溶液, 配制后室温存放备用。转染试剂溶液需要在转染前至少 1 小时配制, 以确保转染试剂溶解充分。转染试剂溶液配制后尽量当天使用。配制好的转染试剂溶液室温保存 5 天之内仍然有较好的转染效率, 但和当天配制的转染试剂溶液相比, 转染效果可能会有一定程度的下降。

试剂	用量(1 个样品)	用量(5 个样品)	用量(10 个样品)	用量(20 个样品)
转染试剂	48mg	240mg	480mg	960mg
溶液A	30μl	150μl	300μl	600μl
溶液B	48μl	240μl	480μl	960μl
Total volume	120μl	600μl	1.2ml	2.4ml

2. 质粒 DNA 转染:

a. 取 10μl 质粒 DNA(10-20μg)于 2ml 圆底离心管中。质粒大小建议为 5~10kb, 质粒浓度为 1~2μg/μl 左右。多个质粒同时转染时的体积和总质量保持不变。多个质粒转染时, 每种质粒的用量比例, 需要酌情自行调整。质粒转染也可以在 12 或 24 孔板中进行, 转染体系也可以按照比例放大或缩小。本试剂盒中描述的用量相当于是 6 孔板中的用量。原生质体用多孔板培养时, 最好选择未经表面处理的多孔板。对于经过表面处理的动物细胞培养用多孔板, 可以使用 5%胎牛血清或小牛血清处理孔表面数秒, 这样有助于减小孔底表面对于原生质体的损伤。



b. 加入 100 μ l 浓度约为 2×10^5 /ml 的原生质体悬浮液(共约 2 万个原生质体), 轻轻混匀。

c. 加入 110 μ l 至少提前 1 小时配制好的转染试剂溶液, 轻轻弹击离心管底部, 以充分混匀。

d. 25°C 静置孵育 5min。最长可以孵育 15min, 但通常孵育 5min 时间已经足够。最佳的孵育时间对于不同的原生质体和不同的质粒需要通过实验摸索。

e. 加入 440 μ l 的终止液, 轻轻混匀, 25°C 100g 离心 1-2min, 尽量去除上清, 收集原生质体。由于转染液非常粘稠, 本步骤加入终止液后离心 1min 通常可以使原生质体聚集在管底, 但使用某些突变体时为减少原生质体损失, 可将离心时间延长至 2min。

f. 加入 500 μ l 终止液轻轻重悬原生质体, 25°C 100g 离心 1min 后去除上清, 尽量去除残留的上清。本步骤可以充分去除残留的转染试剂溶液中的组分, 避免转染试剂溶液中的组分对于后续的不良影响。

g. 加入 1ml 培养液, 小心重悬原生质体, 随后将离心管平置, 23-25°C 弱光培养。

h. 根据具体的实验设计, 可以在转染后 2-6 小时或更长时间, 检测相关的 RNA, 可以在转染后 2-16 小时或更长时间, 检测相关的蛋白或酶活性。基因编辑的效果在转染 24 小时后就可能被检测到。

3. Cas9/sgRNA 等蛋白和 RNA 的转染。

a. 取 200 μ l 浓度约为 1×10^6 /ml 的原生质体(共约 20 万原生质体)悬浮溶液加至 1.5ml 离心管, 加入 3.3 μ l 或 10 μ l Cas9 (6 μ g/ μ l)和 sgRNA (2.2 μ g/ μ l for each sgRNA), 轻轻混匀, 加入 200 μ l 提前配制好的转染试剂溶液, 轻轻混匀, 25°C 静置孵育 5-20min。其它蛋白或 RNA 的转染可以参考进行。最佳的孵育时间需要根据特定的实验条件适当摸索。

b. 加入 800 μ l 终止液, 轻轻混匀, 25°C 100g 离心 5min, 尽量去除上清, 收集原生质体。

c. 加入 1ml 终止液, 轻轻重悬原生质体, 25°C 条件下 100g 离心 2min 后, 尽量去除上清。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

d. 用 1ml 培养液轻轻重悬原生质体，将其平置 23-25°C 培养过夜(16-24h)。转染 24 小时后就很可能检测到基因编辑产生的插入或缺失突变(Indel)。采用其它适当的培养液对于基因编辑的效果可能更好，例如 Modified KM 8p liquid medium with 400 mM glucose 等。

