

0.1M 亚精胺& 2.5M CaCl₂ 使用说明书

储存条件：-20℃保存，有效期一年。

产品组成：

货号	产品组成	规格
SL9520	0.1M 亚精胺溶液（过滤除菌）	100mL
SL0145	氯化钙溶液(2.5mol/L,无菌)	100mL
-	说明书	1份

产品简介：

Coolaber 的 0.1M 亚精胺溶液（过滤除菌），为客户下单之后新鲜配置的无菌溶液。氯化钙溶液(2.5mol/L, 无菌)，为经过过滤之后高压灭菌的无菌溶液。

一般此浓度的亚精胺和氯化钙用于基因枪转化法转基因实验。

亦可用于其他实验的高浓度储备液。

操作步骤：

1. 在进行实验前，至少培养样品 30 天，这样确能保叶片大于 $5 \times 6 \text{ cm}^2$ 。
2. 根据以下步骤制备 DNA-金粉混合液：
 - a. 将金粉微粒中加入充足的无菌蒸馏水。
 - b. 使用 100%乙醇对金粉微粒进行三次洗涤并弃去浮层。
 - c. 加蒸馏水使金粉微粒重新悬浮。
 - d. 将准备好的 DNA 溶液（ $1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ ）添加到金粉微粒溶液中，形成浓度为 $1 \mu\text{g DNA} / 0.6 \text{ mg 金粉微粒悬浊液}$ 。
 - e. 剧烈摇晃微离心管使得样品混合均匀。
 - f. 滴入适当体积的 0.1M 亚精胺和 2.5M CaCl₂ 进入试管，同时不断剧烈地摇晃。
 - g. 继续摇晃一分钟以上。
 - h. 用 100%EtOH 进行三次洗涤，并弃去浮层。

- i. 重新使 DNA 包裹的金粒子悬浮于 100% 的 EtOH 中。
3. 按照说明书中要求的，将 UTS-10 安装到 GDS-80 系统上，并设置 40-50 psi 的传递压力。
4. 调整距离量尺至 6-8 cm 的传递距离。
5. 把四爪叶片夹夹到目标叶上，用手调螺栓将其拧紧固定。
6. 将等分 10 μ l DNA 混匀悬浊液倒入样品装载孔中。
7. 对叶片标本进行轰击。
8. 培育植株三天以上，通过使用 CRi MaestroTM 的体内成像系统观察荧光结果。