

QPix 400系统开拓多色荧光筛选功能

引言

细菌筛选常见于分子克隆构建重组细菌的实验中。它也被用于检测特定蛋白质的表达和活性。QPix 400系列微生物克隆筛选系统可检测一系列荧光波长，从而在细菌实验中开拓了多色荧光筛选功能。

手工挑选微生物克隆是一个耗时且繁杂的过程，利用QPix系统，则可以在一个小时内挑取超过3000个克隆。此外，QPix 400系列的成像模块可以通过荧光强度筛选克隆，从而更加准确地获得目标克隆，简化下游分析。

本文介绍了如何利用QPix系统的多色荧光通道筛选各种的荧光细菌。

材料和方法

用来自Edvotek的pFluoroGreen质粒和pFluoroBlue质粒(都含有氨苄青霉素抗性基因)转化感受态大肠杆菌，随后涂布于LB-amp板上。表达RFP和氨苄青霉素抗性基因的大肠杆菌购自劳伦斯伯克力国家实验室(Lawrence Berkley National Laboratory)的Keasling 实验室(图1)。荧光细菌的不同组合涂布于LB-amp板，37oC培养过夜。

依次用白光和多个荧光通道(见表1)对细菌克隆成像并用QPix 420配套软件分析。用户可以通过克隆大小、形态和荧光强度筛选克隆，从而更加准确地获取目标克隆。

优势

- 研究人员可利用不同的荧光标记筛选细菌。
- 荧光标记组合可用于开发创新的筛选实验。

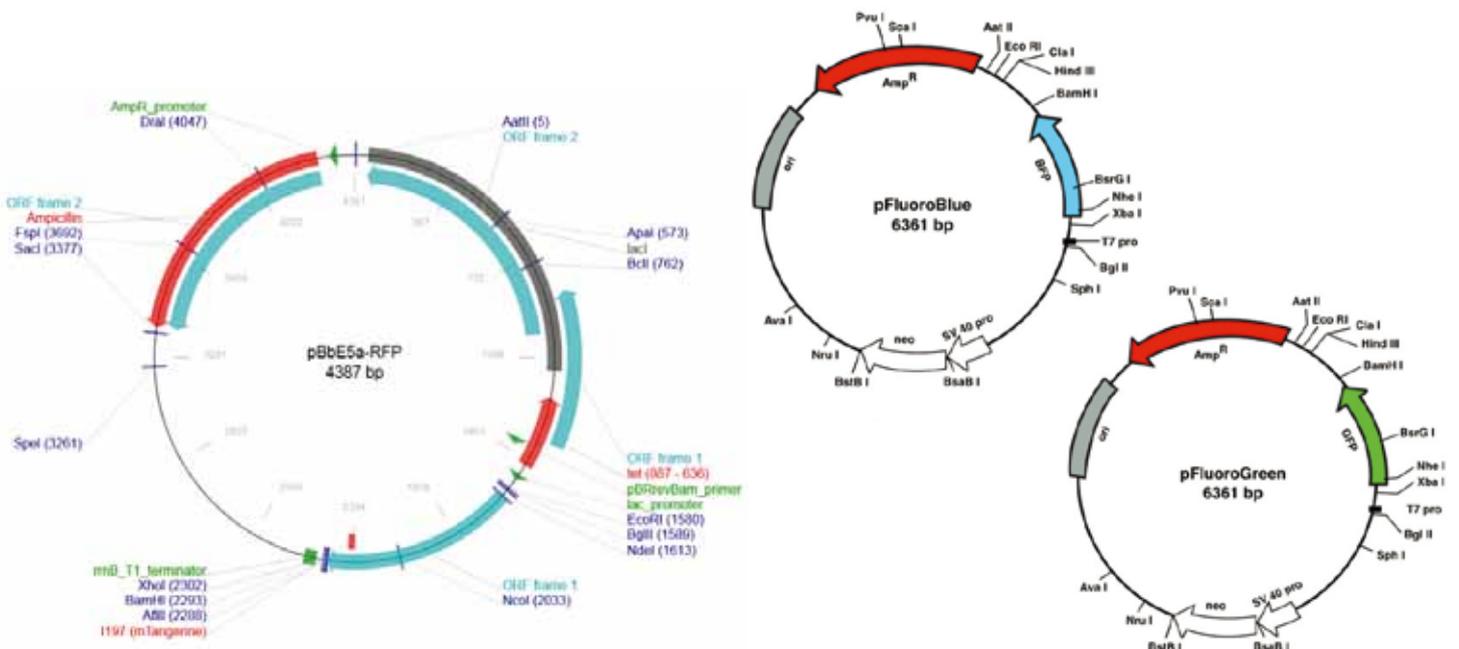


图1: 质粒图谱。pBbE5a-RFP质粒购自Lawrence Berkeley National labs的Keasling Lab。pFluoroBlue质粒和pFluoroGreen质粒购自EdvoTek Biotechnology Education Company。(质粒图谱由Keasling Lab和EdvoTek, www.edvotek.com友情提供)。

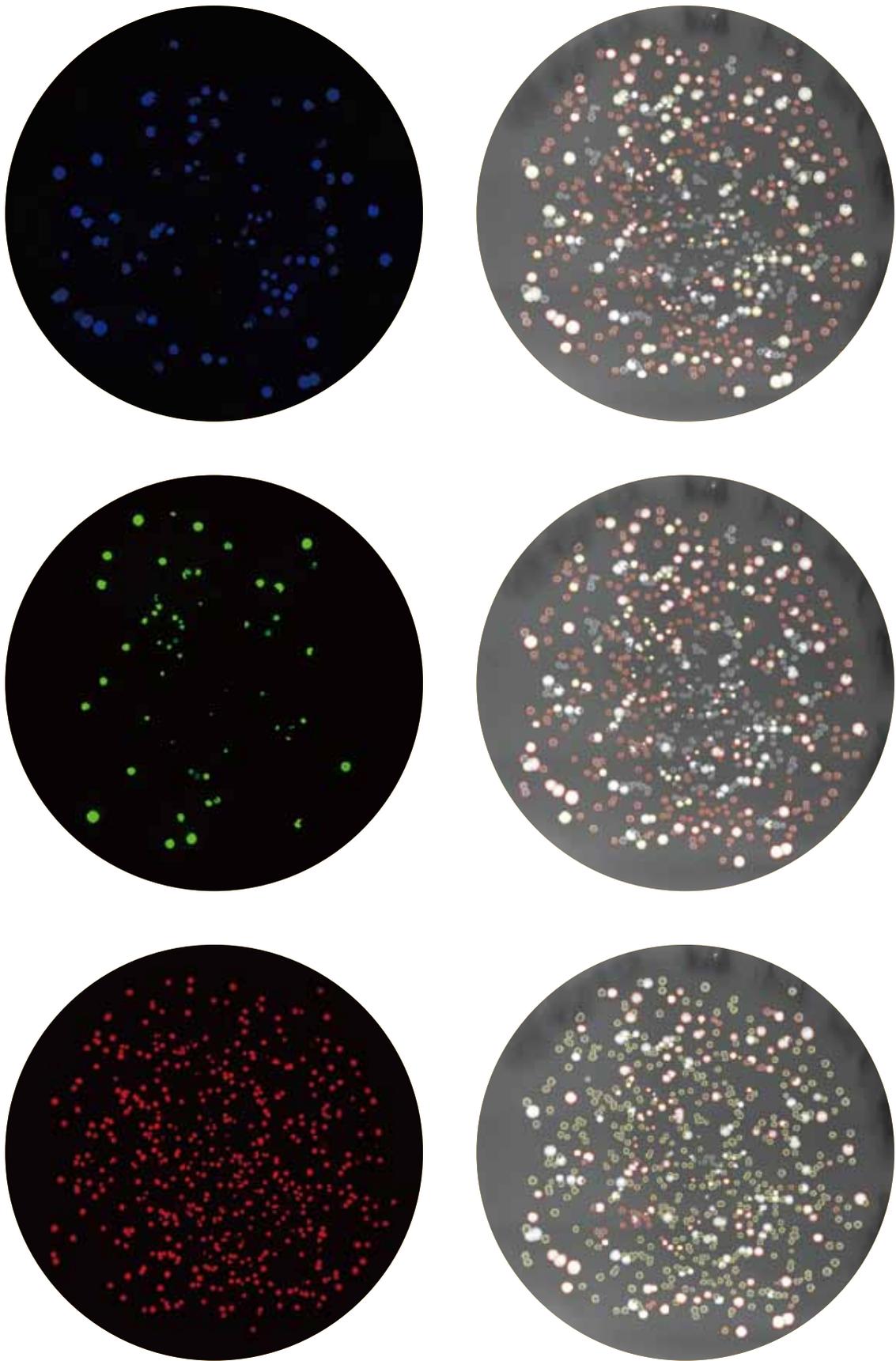


图2: QPix 420系统识别不同的荧光细菌克隆。左侧: 从上到下依次是表达pFluoBlue, pFluoGreen和RFP的细菌克隆的荧光图片。右侧: 白光成像的形态筛选结合荧光强度筛选后得到的结果。黄圈表示克隆符合挑选条件, 红圈表示克隆不符合挑选条件。

细菌克隆的荧光图像是伪彩色，可以用 MetaMorph® 分析软件 (Molecular Devices) 叠加而获得图3的效果。

总结

对细菌克隆进行多色荧光成像和筛选的需求越来越多。利用QPix 420系统的多组滤光片，用户可以轻松达成目标。此外，软件可以实现基于荧光强度的筛选，获得高表达的细菌克隆用于下游实验。

参考文献

Lee T, Krupa R, Zhang F, Hajimorad M, Holtz W, Prasad N, Lee SK, Keasling J. BglBrick vectors and datasheets: A synthetic biology platform for gene expression. *Journal of Biological Engineering* 2011, 5:12.10.1186/1754-1611-5-12.

Fluorescent Protein	Filter Pairs	Ex/Em
BFP	DAPI/DAPI	377/477
GFP	FITC/FITC	457/546
RFP	TxRed/TxRed	531/624

表1: 筛选细菌克隆的三个荧光通道。

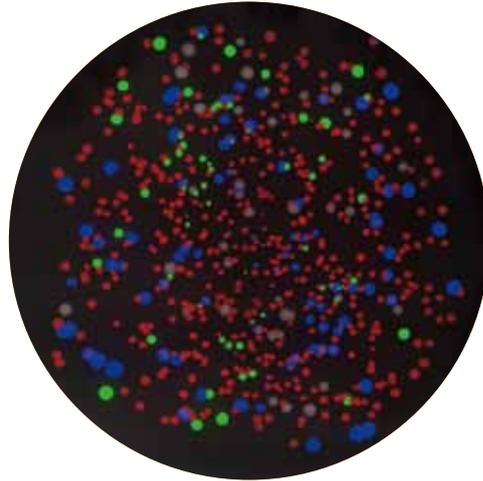


图3: 用QPix 420对荧光细菌克隆进行成像并用MetaMorph®软件(Molecular Devices)进行叠加。

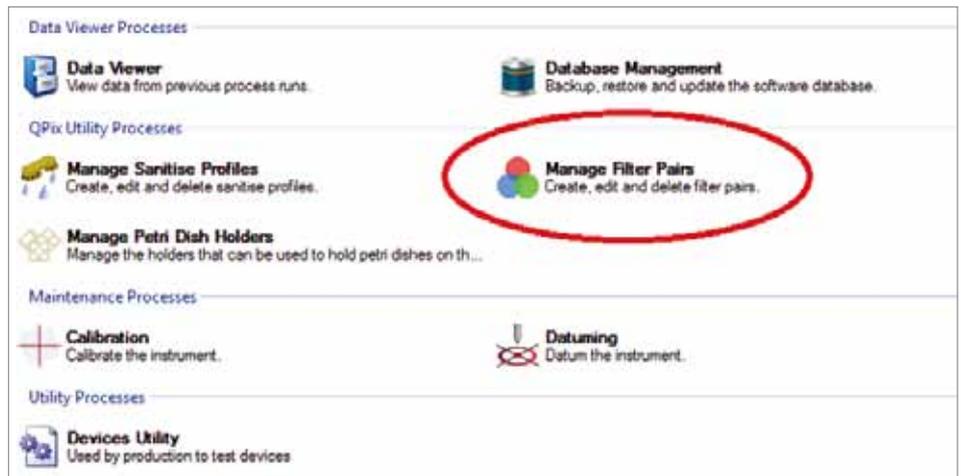


图4: 设置QPix 420的荧光成像。



扫一扫关注我们
的官方微信