

ラン藻 *Synechocystis* PCC6803 及び *Synechococcus* PCC7942 遺伝子相同的組換え法

以下の操作は無菌的条件下で行うこと。

細胞を OD730=1.0 程度にまで培養する。



培養液 20ml を遠沈管にとる。



1600xg、室温で 5 分間遠心する。



ペレットを 1ml の BG11 培地に穏やかに懸濁（ピペティングを繰り返す）する。



インサート遺伝子を 2~5 µg 添加し、穏やかに懸濁する。



暗所下、30℃で一晩振とうする。



選択培地に 100 µl、900 µl ずつプレーティング（スプレッダ - は優しく使う）する。



2~5 W/m² 光条件下、34℃でおよそ 2 週間インキュベーション。



生育してきたコロニーをおのの選択培地に植え継ぐ。



さらに数回選択培地上での植え継ぎを繰り返す。



シングルコロニーを単離し、PCR により遺伝子の組換えを確認する。

* ラン藻はゲノムを数コピーずつ保持しており、すべてのコピー上の遺伝子を組換える必要がある。