



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

超级感受态细菌制备试剂盒

产品编号	产品名称	包装
D0302	超级感受态细菌制备试剂盒	100次

产品简介:

- 碧云天生产的超级感受态细菌制备试剂盒(Supercompetent Cell Preparation Kit)是一种用于快速制备高转化效率大肠杆菌感受态细菌的试剂盒。超级感受态细菌制备试剂盒是在传统超级感受态细菌制备方法的基础上进行适当改良而成,操作便捷,转化效率高。
- 使用本试剂盒可以使感受态效率达到 10^8 - 10^9 cfu/ μ g质粒。对于小的质粒效率略高,而对于大的质粒则效率略低一些。用本试剂盒制备的超级感受态细菌不仅可以转化质粒,而且非常适合于转化普通的连接产物,特别适合于转化平端连接等需要高转化效率的情况。
- 使用本试剂盒操作简单,细菌培养好后仅需60分钟左右即可完成超级感受态细菌的制备。
- 本试剂盒适用于绝大部分常见的大肠杆菌,包括DH5 α 、JM109、TG1、HB101和XL-1等。对于一些用于蛋白表达或病毒质粒构建的特殊大肠杆菌也适用,制备出来的感受态菌转化质粒肯定没有问题,但如果转化连接产物有时效果不如DH5 α 等其它常见的细菌。
- 本试剂盒提供了专门用于制备超级感受态的特殊细菌培养液,可以提高制备出来的感受态菌的转化效率,同时也方便了用户,不必自行配制相应的培养液。
- 本试剂盒可以分多次使用,共可以制备足够进行100次转化的感受态细菌。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D0302-1	超级感受态细菌培养液	125ml
D0302-2	超级感受态制备试剂A	50ml
D0302-3	超级感受态制备试剂B	5ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存,一年有效。

注意事项:

- 在制备感受态细菌的过程中均使用不含抗生素的LB。在使用感受态菌的过程中热休克后的37°C培养时也必须使用无抗生素的LB,即便转入的质粒是有抗性的。
- 超级感受态细菌培养液含有较高浓度的蛋白等物质,在反复冻融后会产生少量沉淀,属正常现象,不会影响试剂盒的使用效果。
- 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. 涂平板:

为取得最佳的感受态效率,必须先把甘油菌或其它形式保存的菌种涂LB平板,并培养过夜。

2. 接种:

取一有新鲜培养的菌种的LB平板,后续操作均在超净台内进行。把镊子的顶端在70%酒精中蘸一下,并在酒精灯上略略烧一下,使镊子的顶端处于无菌状态。用镊子夹取一个无菌的塑料枪头或牙签,从平板上挑取一个单克隆,然后把蘸有菌种的塑料枪头或牙签放到装有3毫升LB的细菌培养试管内。上述操作也可以使用接种环等进行操作。

3. 培养:

37°C约200rpm培养过夜,通常培养时间控制在16小时左右为宜。不宜超过18小时。

4. 再接种培养:

根据需要制备的超级感受态细菌的量,按照1:500的比例用新鲜培养的过夜菌接种培养。例如取100微升的新鲜过夜菌到50毫升本试剂盒提供的超级感受态细菌培养液中,37°C约200rpm培养。通常在大约培养2.5-3.5小时后OD600可以达到0.6-0.7。

5. 制备感受态细菌:

a. 在培养的细菌OD₆₀₀达到0.6-0.7时,把培养的菌液置于冰浴中,冷却15分钟。**注意:**后续所有操作均须在4度或冰浴进行。

- b. 4°C4000g离心5分钟收集细菌，弃上清。注意：离心机必须预先冷却。
- c. 如果离心沉淀前的菌量为50毫升，按后续操作进行，如果是其它体积则按比例换算后进行后续操作。
- d. 用20毫升预冷的超级感受态制备试剂A轻轻重悬细菌沉淀。**悬浮时一定要很轻很慢，否则会影响效果。**
- e. 冰浴15分钟。
- f. 4°C4000g离心5分钟收集细菌，弃上清。注意：离心机必须预先冷却。
- g. 用2毫升预冷的超级感受态制备试剂B轻轻重悬细菌沉淀。**悬浮时一定要很轻很慢，否则会影响效果。**
- h. 冰浴15分钟。
- i. 在冰浴上进行分装，可以根据需要适当分装成50-200微升/管。
- j. 立即使用或用液氮或乙醇干冰浴速冻后-70°C保存。通常6个月内效率不会有明显的变化。

6. 感受态细菌的使用：

- a. 对于感受态细菌效率的测定或连接产物的转化(其它如基因突变产物的转化等参考连接产物进行):
 - (a) 在冰上缓慢融解感受态细菌(对于新鲜制备的感受态就可以直接使用了)，如果检测感受态细菌的效率，加入10pg-1ng质粒，但质粒的体积不宜超过感受态细菌量的10%。如果转化连接产物，每50微升感受态细菌加入2-10微升连接产物。
 - (b) 轻轻用手指弹动离心管，以混匀细菌和质粒或连接产物。冰浴或冰水浴放置30分钟。
 - (c) 42°C水浴，热休克2分钟。
 - (d) 热休克后立即置于冰水浴中，2分钟。
 - (e) 加入900微升LB，37°C200rpm培养1小时。
 - (f) 如果检测感受态效率，取100微升涂布到含有相应抗生素的LB平板上。如果转化的是连接产物，2000-3000g离心1分钟或更长时间使细菌充分沉淀下来。去除约900-950微升LB培养液。细菌沉淀用余下的LB培养液重悬，然后全部涂布到含有适当抗生素的LB平板上。37°C培养过夜。
- b. 对于质粒的转化：
 - (a) 融解感受态细菌，加入不少于50ng质粒到30-50微升感受态细菌中。质粒的量可以是1微克或更多，但体积不宜超过感受态细菌量的10%。
 - (b) 轻轻用手指弹动离心管，以混匀细菌和质粒。冰浴或冰水浴放置10分钟。
 - (c) 取全部菌液直接涂布到含有适当抗生素的LB平板上，37°C培养过夜。

Version 2016.10.31