

感受态制备试剂盒

200T WLA039a

仅用于科学研究,不能用于诊断



产品信息

产品名称 感受态制备试剂盒

产品概述 大肠杆菌经过处理后可以摄取外源DNA (Plasmid DNA、Phage DNA等), 处于这种状态的细胞称为感受态细胞 (Competent Cell)。在基因工程试验中, 经常要使用各种感受态细胞进行DNA的转化操作。使用本试剂盒制备的感受态细胞可以满足大多数实验的需要, 并且适用于几乎所有常用的大肠杆菌, 例如: E.coli DH5 α 、JM109、CJ236、HB101、MV1184、BMH71-18mutS等, 转化效率均可以达到 1×10^6 cfu/ μ g pUC19以上 (转化效率根据大肠杆菌细胞系及转化用DNA不同稍有差异)。使用本试剂盒制备的感受态细胞可以在-70 $^{\circ}$ C保存一年。

包装信息

试剂名称	WLA039a (200T)	保存条件	有效期
感受态制备试剂A	100ml	4 $^{\circ}$ C	一年
感受态制备试剂B	40ml		

注意事项

- 感受态制备试剂A和感受态制备试剂B要提前预冷。
- 培养感受态细胞制备菌体时, OD₆₀₀值的测定应随时进行, 以使OD₆₀₀值控制在0.35-0.5之间。如OD₆₀₀值超出此范围, 可能降低感受态细胞的转化效率。
- 用于感受态细胞制备的菌体培养停止后要立即处理, 不要将培养液过长时间室温放置, 在冰中放置时也不要时间过长。
- 感受态细胞的制备操作过程中, 离心后弃上清时要尽量弃尽, 否则会降低感受态细胞的转化效率。
- 使用感受态制备试剂A和感受态制备试剂B悬浮沉淀时, 用手指轻轻弹动Microtube管壁, 禁止剧烈振荡操作。
- 感受态分装后立即放入-70 $^{\circ}$ C冰箱。

操作流程

- 取-70 $^{\circ}$ C冰冻菌种, 用划线法接种细菌于培养皿, 做好标记, 于37 $^{\circ}$ C培养过夜。
- 第二天, 从平板上挑取单个菌落, 接种至含有3ml LB培养液的试管中, 37 $^{\circ}$ C, 175rpm振荡培养过夜。次日取菌液1ml接种至含有100ml LB培养基的500ml烧瓶中, 37 $^{\circ}$ C剧烈震荡培养约2.5h左右 (200r/min)。
- 当菌落OD₆₀₀值达到0.3-0.5时, 将烧瓶取出放置冰上10-15min。在无菌条件下把菌液倒入50ml离心管中。4 $^{\circ}$ C, 4000rpm离心5min。
- 弃上清, 将离心管倒置于干滤纸上1min, 吸干残留的培养液。加10ml 预冷的感受态制备试剂A到离心管中, 轻轻吹打, 悬浮菌体, 冰浴30min。
- 4 $^{\circ}$ C, 4000rpm离心5min, 弃上清, 将离心管倒置于干滤纸上1min, 吸干残留的培养液。加4ml预冷的感受态制备试剂B, 重悬浮菌体。每管0.2ml分装, 至4 $^{\circ}$ C保存备用, 24-48h内使用效果较好。如果暂时不用, 可再保存于-70 $^{\circ}$ C的低温冰箱中。