天净沙系列

CAT#:230328

常温运输，-20℃保存

天净沙

高效 *E.coli* 化学感受态细胞制备试剂盒

High Efficiency *E.coli* Competent Cell Preparation Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本试剂盒是基于 Inoue 方法的、高效快速 *E.coli* 化学感受态细胞制备试剂盒。本产品具有下列特点：

1. 一步式操作，离心后重悬细胞即可，非常简单。
2. 转化率高，转化效率一般都在 1E9/μg 质粒以上。
3. 重复性好，可用于各种 *E.coli* 菌种，包括 K12 系（如 JM109、DH5a 等）和 B 系（如 BL21 系列菌种）。
4. 适用于低、中、高拷贝的各种质粒。
5. 本试剂盒足够 20 次制备，每次可以制备可以用 25 mL 菌液制备 0.1 mL × 20 管感受态细胞。所得感受态细胞在-80℃至少可以保存半年以上。
6. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用大扁盒包装

名称	编号	规格	包装
E.coli 化学感受态细胞制备溶液 A	230328a	200 mL	250 mL 本色瓶
E.coli 化学感受态细胞制备溶液 B	230328b	3 mL	5 mL 棕玻瓶
使用手册	230328sc	1 份	无

运输及保存

常温运输，-20℃保存，其中 *E.coli* 化学感受态细胞制备溶液 B 4℃避光保存，有效期一年。

自备试剂

无菌超纯水，SOB 液体培养基，温控摇床

使用方法

感受态细胞的制备

1. 划盘，37℃过夜培养出单菌落
2. 挑取 10 个平皿上的单菌落（2~3 mm 直径），用接种环接种至 25 mL SOB 培养基中，在 18℃ 250-300 转/分钟条件下摇晃培养 2-3 小时，直至 A_{600} 值为 0.6，同时进行剧烈摇动（转速 200-250 rpm）。
3. 将培养瓶从培养箱中取出并置于冰中静置 10 min。再将培养液转移至 25 mL 的离心瓶中，在 4℃下以 2500×g（在 Beckmann J-6B 离心机中转速为 3000×g）离心 10 分钟。
4. 倒去培养液，加 8 mL 预冷的 *E.coli* 化学感受态细胞制备溶液 A 重悬细菌沉淀。轻轻旋转，不要用振荡器或吹吸混匀。冰浴静置 10 min。
5. 在 4℃下以 2500×g 离心 10 min 收集菌体。
6. 用 2 mL 预冷的 E.coli 化学感受态细胞制备溶液 A 轻轻重悬沉淀。加 0.15 mL *E.coli* 化学感受态细胞制备溶液 B。轻轻混匀细菌悬液，冰浴静置 10 min。

	7. 迅速将悬液分装到冷却的无菌微量离心管中，封紧管口，没入液氮中快速冰冻感受态细胞。贮存于-80℃备用。25 mL 菌液一次可以制备 0.1 mL × 20 管感受态细胞。
关联产品	一步式 *E.coli* 感受态细胞制备试剂盒