天净沙系列

CAT#:6-0514

常温运输及保存

天净沙

CCMB80 转化液

CCMB80 Transformation Buffer

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

本产品是含乙酸钾、氯化钙、氯化锰、氯化镁和甘油的混合缓冲液，可以用于制备大肠杆菌感受态细胞。其成分表如下：

成分	含量
乙酸钾(1 M，pH 7.0)	10 mL/L
二水氯化钙	11.8 g/L
四水氯化锰	4.0 g/L
氯化镁	2.0 g/L
甘油	100 mL/L

规格及成分

本产品使用大立盒包装

成分	编号	规格	包装
CCMB80 转化液	6-0514	250 mL	250 mL 本色瓶
使用手册	6-0514sc	1 份	无

运输及保存

常温运输及保存，有效期一年。

自备试剂

SOB 液体培养基，无菌离心管（尺寸根据离心机决定，离心菌液用），1.5 mL 无菌离心管（分装感受态细胞用）

操作流程

1. 预培养大肠杆菌：接种单个新鲜大肠杆菌菌落到 SOB 液体培养基中，18-22℃振荡培养 12-18 小时至饱和，饱和时菌液的 OD≈3.5。
2. 大规模培养：将相当于终体积 0.2%的上步得到的饱和菌液加入到 SOB 液体培养基中（如果是 100 mL SOB 液体培养基则加入 0.2 mL 饱和菌液），此时 OD_{600}≈0.01。放 18-22℃振荡培养，摇瓶速度为 250×g。从第 8 小时开始定期监测 OD，当 OD_{600} = 0.2 - 0.26 时立即进入下一步。在培养细菌期间，将离心机和离心管放 4℃预冷待用。将本产品放冰上预冷待用。
3. 将细菌转移到预冷的离心管中，1000×g 离心 15 分钟。此步可以分多管离心。此时离心机可以放在室温，因为它的温度不会马上变回室温。
4. 小心吸弃液体培养基，不要触及细菌沉淀。
5. 将细菌重悬于 1/3 培养液体积的冷冻本产品中（如果是 100 mL 菌液，则此处用 33 mL 本产品）。如果是分多管操作，需要重悬后汇集。
6. 将重悬液放冰上孵育 20 分钟。
7. 1000×g 离心 15 分钟。小心吸弃液体培养基，不要触及细菌沉淀。
8. 通过轻柔旋转将细胞重悬于 1/25 体积的预冷的本产品中（如果是 100 mL 菌液，则

	此处用 4 mL 本产品） 9. 在 4℃冷藏室或在冰上将制备的感受态细胞分装到预冷的无菌离心管中，体积根据每次转化需要的量决定，一般是 50-100 μL。 10. 快速将装有感受态细胞的离心管从 4℃转移到的-80℃冰箱中长期保存。如果需要立即使用，则直接在 4℃进行转化。 11. 转化过程按常规流程进行。
关联产品	DH5a 感受态细胞

20230710ysm-dx