

## New 非甲基化菌株（甘油菌）

产品编号: JZ004

### 菌株保存

穿刺菌短期保存于 4℃，甘油菌可长期保存于-80℃。

### 感受态细菌制备步骤

1. 从 37℃ 培养 16~24h 的新鲜平板中挑取一个单菌落，转到 5~10ml 培养液中 300rpm 培养过夜。按照 1: 60 稀释到新鲜培养液，继续培养 3h。为得到有效转化，活细胞数不超过  $10^8$  细胞/ml (OD 0.6~0.8)。
2. 冰浴 10min, 于 4℃、4000rpm 离心 10min, 收集细菌。
3. 弃培养液，用 1ml 冰预冷的 0.1M CaCl<sub>2</sub> 重悬每份沉淀，放置于冰上 30min。
4. 4℃、4000rpm 离心 10min 以回收细菌，倒置 1min，以去除残留的痕量培养液。
5. 每 10ml 初始培养物用 200ul 冰预冷的 0.1M CaCl<sub>2</sub> 重悬每份细菌沉淀。
6. 分装小份并加入终浓度 10~15% 甘油冻存于-70℃。有研究表明 4℃ 在 CaCl<sub>2</sub> 贮存的最初 12~24h 内，转化效率增加 3~5 倍。

**Note:** 推荐使用 GK6031 高效感受态细胞制备试剂盒。

### 质粒转化操作步骤

1. 感受态细菌使用前在冰中解冻。
2. 融解后，轻柔混合均匀，取 100 μl 的感受态细菌移入试管中（忌 Vortex）。
3. 加入用于转化的 DNA（不超过 10ng，体积不多于 10ul）。
4. 在冰中放置 30 分钟。
5. 42℃ 放置 90 秒，忌摇动。
6. 立即移入冰中放置 1~2 分钟。
7. 加入预先保存在 37℃ 的 SOC 培养基 900 μl。
8. 37℃ 振荡培养 45~60min (160~225 rpm)。
9. 适量涂平板。
10. 37℃ 放置过夜。

**Note:** 转化时，除用试管外，还可以用 Eppendorf tube，但转化效率稍低。  
使用 100 μl Competent Cells 转化时，DNA 的使用量不能大于 10 ng。  
除 SOC 培养基以外，LB 培养基或 fb-broth 也可使用，但有时效率稍低。

### Product Use Limitation:

*This product is developed, designed and sold exclusively for research purpose and in vitro use only.*

