

大肠杆菌感受态制备SOP

1. 仪器设备

名称	厂商	货号
台式高速离心机	HealForce	/
高压蒸汽灭菌锅	松下健康医疗器械	MLS-3781L-PC
磁力搅拌器	SCIOLOGEX	MS-S
电子天平	上海浦春计量仪器有限公司	JY202

2. 试剂

2.1 试剂及供应商

名称	供应商	货号
CaCl ₂	VETEC	V900266-500G
蛋白胨	Oxoid	Lp0042
酵母提取物	Oxoid	Lp0041
NaCl	国药	10019318
甘油	国药	10010618

1.2 试剂配制

- (1) 0.1M CaCl₂: 称取1.11g无水氯化钙用80ml灭菌水溶解，定容到100ml，灭菌备用。
- (2) 30%甘油: 30ml甘油用灭菌水溶解，定容到100ml，灭菌备用。

3. 大肠杆菌感受态制备

- (1) 第一天将-80℃拿出来的甘油菌划线活化；
- (2) 第二天下午从新鲜平板上挑单菌落接种于4ml LB培养基中，过夜培养；
- (3) 第三天早上按1:100比例转接200 ml（1L摇瓶）37℃，220 rpm摇至OD值在0.4-0.6之间即可拿出放冰上冰浴30 min；
- (4) 4000 rpm，10 min离心，收集200 ml菌液；
- (5) 按3 ml菌液/1 ml CaCl₂（0.1M）缓慢重悬，冰浴30 min；
- (6) 4000 rpm，5 min离心，去掉上清；
- (7) 按3 ml菌液/0.7 ml CaCl₂（0.1M）+0.3 ml甘油（30%）缓慢重悬；
- (8) 分装，一般按100ul/管分装，分装完后标记好放-80℃。

The end



· 一站式蛋白抗体发现服务

重组蛋白 · 抗体 · 噬菌体文库 · 诊断原料

—— 武汉国家生物产业基地 · 光谷抗体发现与筛选公共服务平台 ——