

枯草感受态制备SOP

1. 仪器设备

名称	厂商	货号
冷冻离心机	heal force	neofuge 15R
转移摇床	其林贝尔 仪器制造有限公司	TS-8S
高压灭菌锅	松下健康医疗器械（上海）有限公司	MLS-3781L-PC
移液器	Eppendorf	3120000232
磁力搅拌器	SCIOLOGEX	MS-S
电子天平	上海浦春计量仪器	JY202

2. 试剂

名称	厂商	货号
山梨醇	阿拉丁	A1607028
甘露醇	SCR	63008816
甘油	国药	10010618
蛋白胨	Oxoid	Lp0042
酵母提取物	Oxoid	Lp0041
NaCl	国药	10019318

3. 枯草芽孢杆菌感受态制备方法

- 新鲜平板挑单菌落（小一点为好）接种于5 ml LB无抗培养基中，过夜培养。
- 测量菌液OD，控制好接种量，使接种完毕后培养基的OD在0.19-0.2之间。培养基为50 ml GM。37 °C，200 rpm培养至OD600=1.0（大约3-4小时）左右（注：BS168长得快估计3小时左右，WB800N长得慢，估计4小时以上）。
- 取全部菌液冰水浴10 min，然后5000 rpm，8 min，4 °C离心收集菌体。
- 用40 ml在4°C预冷的电转缓冲液（ETM）洗涤菌体，5000 rpm，8 min，4°C离心去上清，如此漂洗3次。
- 将洗涤后的菌体重悬于500 μl的ETM中，每管分装60 μl，分装完后标记好放-80°C保存，备用。
- 试剂配置：GM：LB+0.5 M 山梨醇；RM：LB+0.5 M山梨醇+0.38 M甘露醇；ETM1：0.5M山梨醇+0.5 M甘露醇+10%甘油。

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