

超级感受态细胞制备

一、材料

1. 缓冲液和溶液

(1) 二甲亚砜 DMSO 二甲亚砜的氧化产物据推测为二甲硫醚，是转化的抑制物（Hanahan 1985）。为避免上述问题，应购买高质量的 DMSO。

(2) Inoue 转化缓冲液 用前置于冰上预冷至 0°C。

3. 培养基

SOB 培养基：蛋白胨 20g，酵母粉 5g，氯化钠 0.5g，氯化钾 1.86g，氯化镁 0.95g，高压灭菌。

二、方法

(1) 准备 Inoue 转化缓冲液（用前冰上预冷）。

试剂	需要量	终浓度
MnCl ₂ ·4H ₂ O	10.88g	55mmol/L
CaCl ₂	1.65g	15mmol/L
KCl	18.65g	250mmol/L
PIPES	0.302g	10mmol/L
蒸馏水	1000ml	
pH	用氢氧化钾调节 pH 至 6.7	

经过高压灭菌后冷却后预冷处理。

(2) 挑取一个经 37°C 培养 16~20 h 平皿上的单菌落（2~3 mm 直径），接种至 3 ml LB 培养液 SOB 培养液中，37°C 摇床（250~300 r/min）培养至浑浊；

(3) 于 4°C 以 3000rpm 离心 10 min 收集菌体。

(4) 倒去培养液，加 80 ml 预冷的 Inoue 转化缓冲液重悬细菌沉淀。轻轻旋转，不要用振荡器或吹吸混匀。4 度静置 30 分钟。

(5) 于 4°C 3000 r/min) 离心 10 min 收集菌体。

(6) 用 10 ml 预冷的 Inoue 转化缓冲液轻轻重悬沉淀。加 0.75ml DMSO。轻轻混匀细菌悬液，放置冰上 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 -70°C 备用。

订购方式：

(1) 登录瑞楚生物官网 www.ruichubio.com 订购或拨打 021-59145618 订购热线订购；

(2) 直接登录瑞楚生物淘宝旗舰店 ruichubio.taobao.com 订购；

(3) 登录 www.ruichubio.com 下载中心下载订购单，填表并发送至表格中标注的邮箱完成订购

注：在邮件确认合同或订购单情况下，可以货物和发票一起寄送，对公转账。