

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:12-118  
低温运输和-80℃保存

**TIANDZ**

# 枯草杆菌 WB800N

*Bacillus subtilis* WB800N

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<b>产品及特点</b>	枯草杆菌 WB800N 是芽胞杆菌属的一种，属于分泌型宿主菌，常被用于基因表达。本产品具有新霉素 (neomycin) 抗性。其基因型如下： <i>nprE aprE epr bpr mpr :: ble nprB :: bsr vpr wprA :: hyg cm :: neo</i> ; Neo <sup>R</sup> 。			
<b>规格及成分</b>		<b>成份</b>	<b>编号</b>	<b>塑料袋包装</b>
		枯草杆菌 WB800N	12-118	1 mL
		使用手册	1 份	
<b>运输及保存</b>	低温运输，-80℃保存，有效期一年。			
<b>自备试剂</b>	LB 培养基、山梨醇、甘露醇、甘油、超纯水等			
<b>使用方法</b>	<p>质粒转化枯草杆菌的方法有很多，如电转化、Spizizen 转化、原生质体转化等。根据实验方法的不同，用的试剂和培养基有所不同。本手册提供一个电转化方法。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>准备所需试剂与耗材：           <ol style="list-style-type: none"> <li>配制 40 mL (LB+0.5 M 山梨醇) :蛋白胨 10 g/L, 酵母粉 5g/L, NaCl 10 g/L, 3.6g 山梨醇 pH=7.2。</li> <li>200 mL 电转培养基 (0.5 M 山梨醇, 0.5 M 甘露醇, 10%甘油) : 18g 山梨醇, 18.5g 甘露醇, 20 mL 甘油。</li> <li>10 mL RM (0.5M 山梨醇, 0.38M 甘露醇) : 0.9g 山梨醇, 0.7g 甘露醇。</li> <li>2 个 50mL 离心管, 灭菌。</li> </ol> </li> <li>接种枯草杆菌 WB800N 于 3 mL 的 LB 培养基中, 过夜培养。</li> <li>取 2.6 mL 过夜培养物接入 40 mL (LB+0.5 M 山梨醇) 中, 37℃, 200 rpm 培养至 OD<sub>600</sub>=0.85~0.95。</li> <li>将菌液冰水浴 10 分钟, 然后 5000g, 4℃离心 5 分钟收集菌体。</li> <li>用 50 mL 预冷的电转培养基 (0.5 M 山梨醇, 0.5 M 甘露醇, 10%甘油), 重新吹悬菌体, 5000g, 4℃离心 5 分钟去上清, 如此漂洗 4 次。</li> <li>将洗涤后的菌体吹悬于 1 mL 电转培养基中, 每 EP 管分装 60 μL。</li> <li>将 60 μL 感受态细胞中加入 50 ng DNA (1~8 μL), 冰上孵育 2 分钟, 加入预冷的电转杯 (1 mm) 中, 电击一次。电转仪设置: 2.0 kv, 1 mm, 电击 1 次。(电击结果: 时间常数=4.5~5.0 ms, 如果时间常数&lt;4.2, 则需要增加电转培养基的漂洗次数或者提高感受态的稀释倍数来获得更高的转化效率。)</li> </ol>			

	8. 电击完毕取出杯子并立即加入 1 mL RM (LB+0.5 M 山梨醇+0.38 M 甘露醇) , 37°C, 200 rpm, 复苏 3 小时后, 涂板。37°C, 过夜培养。
<b>关联产品</b>	LB 培养基 (CAT#:100602) 、山梨醇 (CAT#:87-79-6) 、甘露醇 (CAT#:69-65-8) 、甘油 (CAT#:56-81-5) 、超纯水 (CAT#:100935)