

表达质粒转化的操作程序

操作程序

1 材料及仪器:

1.1 E. coli BL21(或ROSETTA)菌株 氯霉素 氨苄青霉素 质粒 DNA LB 固体培养基 培养皿 琼脂粉

1.2 恒温培养箱, 无菌工作台, 低温冰箱, 恒温水浴锅, 制冰机, 微量移液枪

2 操作程序:

2.1.从-80℃冰箱中取出感受态细胞悬液(BL21 或 ROSETTA), 立即至于冰上解冻。

2.2 下午 2 点半加入质粒 DNA 溶液 (体积 2ul) 轻轻摇匀, 冰上放置 30min (每 10 分钟拿出来晃一次)。

2.3 42℃水浴中热击 60S, 热击后迅速在冰上冷却 5min。

2.4 将上述菌液摇匀后取出用烧好的三角玻璃棒涂于 (含对应抗生素) 的固体培养基上, 正位置培养皿于 370C 培养基中, 第 2 天上午 9 点取出。

注意事项: 感受态取出后, 剩下的应立即放回冰箱

注意水浴锅温度稳定和热击时间