



细菌电转实验

一、实验准备

1. 仪器准备：电转仪器、离心机、恒温摇床、恒温培养箱。
2. 耗材试剂准备：电转杯、电转液、枪头、带抗性 LB 平板、SOC 培养基、1.5mL EP 管、锥形瓶、待电转质粒。

二、实验流程

1. 大肠杆菌（DH5a）接菌（1:100）到 5mL 无抗 LB 培养基/SOC 培养基，摇菌 6-8h，直至对数期生长。（OD600：0.7-1.0）
2. 用 6600 rpm/min x 5min 收集活菌沉淀。
3. CellEasy 电转液重悬，洗两遍。6600 rpm/min x 2min。用 1mL 电转液重悬细菌，可分装 10 管，0.1mL/管，备用。
4. 1ug 质粒和 0.1mL 菌液混匀。电转质粒浓度最好 10ug/mL 以上。
5. 移取 85ul 混合液与 1mm 电转管中，按细菌电转实验参数进行设置（细菌电转：800-1200V，5ms）
6. 电转完毕后，取出电转杯，加入 2mL 预冷 SOC 培养，缓慢重悬，移至新的 1.5mL EP 管中。
7. 37 度恒温摇床，200rpm/min，培养 30-45min。
8. 取适量菌液涂板。（可选：瞬离后，移取部分培养基，重悬 100-200uL 体积重悬菌液，涂布于带有质粒相应抗性的 LB 平板中）
9. 37 度恒温培养箱静止培养过夜。（12-16 小时）