

WB800N 菌株产品说明书

基本信息:

产品货号	产品名称	出品公司	原核抗性	产品规格	保存条件
HG-VKW0943	WB800N 枯草杆菌	HonorGene	Kan+	1ml 甘油菌	-20℃或-80℃

基因型:

nprE aprE epr bpr mpr::ble nprB::bsr Δ vpr wprA::hyg cm::neo; NeoR

菌株简介:

枯草杆菌 WB800N 是芽胞杆菌属的一种，由 WB800 改造而来，属于分泌型宿主菌，常被用于基因表达。其具有 Kan+/Neo+ 抗性。

产品说明:

产品名称: WB800N 枯草杆菌

英文名称: *Bacillus subtilis* WB800N

菌株类别: 枯草杆菌

原核抗性: Kan+

培养基: LB 培养基

培养条件: 37℃, 有氧

保存方式: 制备甘油菌, -20℃或-80℃保存

基本应用: 枯草杆菌表达菌株

保存:

保存于-20℃或者-80℃。建议冻存前先做好分装，以尽量避免反复冻融。

扩增:

可以直接用甘油菌接种，建议取 200~300ul 甘油菌，接种至 3~5ml 新鲜 LB 培养基（Kan+抗性）中，过夜摇菌即可。

也可以先用甘油菌划线，然后挑单克隆，再过夜摇菌。

使用方法:

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。本说明书提供一种电转化方法，供您参考。

自备试剂: LB 培养基、山梨醇、甘露醇、甘油、超纯水等。

1. 准备所需试剂与耗材:

①配制 40mL (LB+0.5M 山梨醇): 蛋白胨 10g/L, 酵母粉 5g/L, NaCl 10g/L, 3.6g 山梨醇 pH=7.2。

②200 mL 电转培养基 (0.5M 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。

③10 mL RM (0.5M 山梨醇, 0.38M 甘露醇): 0.9g 山梨醇, 0.7g 甘露醇。

④2 个 50mL 离心管, 灭菌。

2. 接种枯草杆菌 WB800N 于 3 mL 的 LB 培养基中, 过夜培养。

3. 取 2.6 mL 过夜培养物接入 40mL (LB+0.5M 山梨醇) 中, 37℃, 200rpm 培养至 OD600=0.85~0.95。

4. 将菌液冰水浴 10 分钟, 然后 5000g, 4℃离心 5 分钟收集菌体。

5. 用 50 mL 预冷的电转培养基 (0.5M 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。

6. 将洗涤后的菌体吹悬于 1 mL 电转培养基中，每 EP 管分装 60 μ L。

7. 将 60 μ L 感受态细胞中加入 50ng DNA（1~8 μ L），冰上孵育 2 分钟，加入预冷的电转杯（1mm）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 <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。）

8. 电击完毕取出杯子并立即加入 1 mL RM（LB+0.5M 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。