

# 分子生物学服务说明书

尊敬的客户：

您好！感谢您对公司的信赖与支持。

为了让您更加方便，更加准确的使用我公司提供的服务，请您阅读以下服务说明：

## I. 质粒：

尊敬的客户，如果您的产品是质粒，请阅读以下说明。

公司对提供的含有目的基因的重组质粒进行了真空冷冻干燥，干燥后的质粒在离心管底部一般呈薄膜状或是无色透明，使用前请小心开启，以免丢失质粒。

1、收到样品后，开启前请于 12000r/min 离心 1 分钟，确保冻干质粒DNA 位于收集管底，以防打开时冻干质粒散失；

2、我公司提供的质粒总量约为 2~5 $\mu$ g（发货量可在标签上查询），建议用 20~50 $\mu$ l 灭菌后的双蒸水或 pH8.0 的 1\*TE 缓冲液来溶解，溶解后的质粒浓度约为 100 ng/ $\mu$ l，您也可以根据您当前的实验需要来溶解质粒；

3、溶解后的质粒或到货后的干粉质粒若长期不使用请于-20℃保存，保存周期约为1年，4℃保存周期约3个月，质粒常温下保存存在加速降解的风险，不建议做常温保存；另，需注意避免反复冻融以防质粒降解；若长时间保存后，使用前建议先点胶验证是否降解；质粒的保存周期也会因质粒的浓度存在一定的差异，建议高浓度保存。

4、提供的质粒满足一般的分子生物学实验要求，如 PCR 扩增、酶切连接、质粒转化和质粒 DNA 测序等。小抽质粒不建议直接用于细胞转染或者真核细胞蛋白表达。如果您的项目有转染或其它需求，您可以选我司其它级别的质粒抽提服务，例如：转染级别，准医疗级别等。

如果你对质粒选择其它的发货形式（液体质粒、滤纸质粒），使用说明如下：

A、液体质粒：可根据实验需求直接使用

B、滤纸质粒：

- 在超净工作台中将滤纸画圈部分剪下（多剪一点），然后剪碎；
- 将剪下的滤纸放入 EP 管中；
- 用 50 $\mu$ l TE 或双蒸水浸泡半小时后离心集液

尊敬的客户，如果您的产品是基因片段的质粒发货，请阅读以下说明。

公司会根据合同要求/客户需求，提供相应的基因片段的质粒发货，基因片段的质粒发货量按合同要求/客户需求提供，目前无默认值。其他的使用详情，请参照质粒的说明。

## II. PCR 产物：

尊敬的客户，如果您的产品是PCR 产物，请阅读以下说明。

公司对提供的含有目的基因的PCR 产物进行了真空冷冻干燥，干燥后的PCR 产物在离心管底部一般呈薄膜状或是无色透明，使用前请小心开启，以免丢失质粒。

1、我公司提供的 PCR 产物约为 500ng，离心后，用 20 $\mu$ l 灭菌后的双蒸水或 pH8.0 的 1\*TE 缓冲液来溶解，溶解后的质粒浓度约为 25 ng/ $\mu$ l。您也可以根据您当前的实验需要来溶解质粒；

2、溶解后的PCR 产物容易降解，请注意实验前的检测，若长期不使用请于-20℃保存，并请避免反复冻融以防PCR 产物降解；

3、提供的PCR 产物满足一般的分子生物学实验要求，如 PCR 扩增、酶切连接、DNA 测序等。

## III. 甘油菌/穿刺菌：

尊敬的客户，如果您的产品是菌液，请阅读以下说明。

我公司同时提供一管含有目的基因的重组质粒的穿刺菌或是甘油菌约 500  $\mu$ L 备用，宿主菌的名称已经在

标签上注明。

- 1、甘油菌室温保存周期约为 1 周，也可-20℃保存，保存周期约为 1 年；穿刺菌可在 4℃保存一个月；
- 2、甘油菌的使用：根据质粒的抗性来进行扩大培养，先加入一定量的抗生素，再吸取 100-200  $\mu\text{L}$  甘油菌接种到 3-5mL 液体培养基中，接种量过低可能影响菌种活化失败，建议做三组重复实验，保证接种成功率；
- 3、穿刺菌的使用：拿到的穿刺菌可以看到明显的穿刺线，挑取穿刺线上的菌接种到相应的培养基中 37℃ 过夜培养即可。
- 4、我们提供的甘油菌和穿刺菌由于运输等因素影响，建议不要直接作为保种使用；同时菌液开盖后极易污染，使用过程请严格遵守无菌操作规范，出现菌液不长或提取质粒遇到困难时，建议您使用干粉质粒转化挑单克隆进行培养或菌划线复苏，可以提高摇菌的效率和成功率。一般不建议使用穿刺菌或者甘油菌直接大批量接种培养。

### 特别说明：

如果您收到的菌液的感受态是EPI400, 请注意诱导剂的使用。

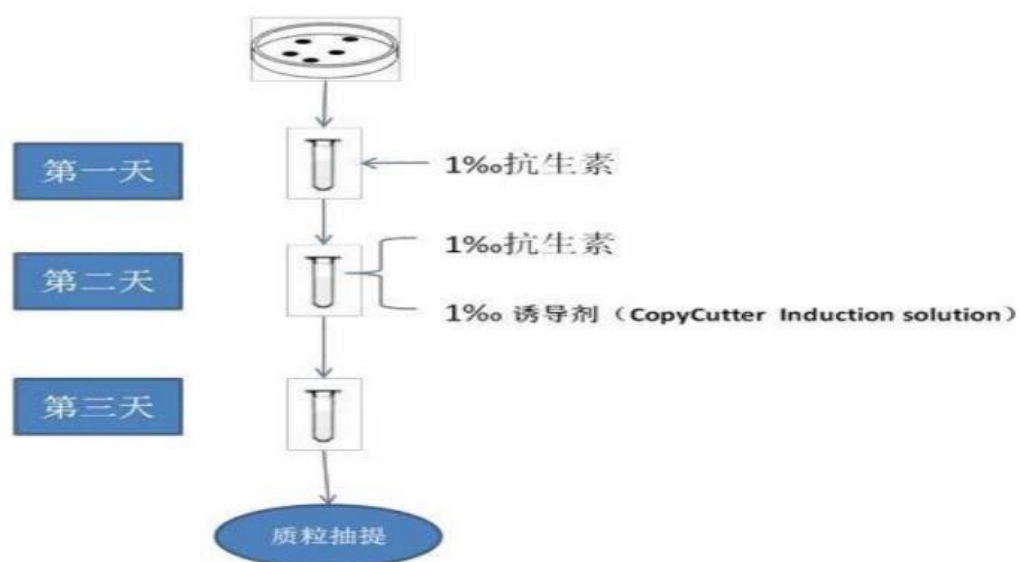
### EPI400 菌株使用说明

#### 质粒转化：

1. 取出 EPI400 感受态细胞放于冰盒上，且冰盒温度降于 0℃以下，使 EPI400 感受态细胞融化；
2. 将质粒（100 $\mu\text{l}$  EPI400 感受态细胞中转入 10 $\mu\text{l}$  样品），轻弹几秒，使混匀（尽量不要用手触摸感受态）；
3. 置于冰上，冰浴 30min，取出；
4. 42℃水浴热激 90 秒；
5. 再置于冰上，冰浴 2-3min，取出；
6. 加入 600-700 $\mu\text{l}$  的无抗 LB培养基，37℃摇床培养，50~70min；
7. 取出，置于离心机 5000rpm 离心 5min，抽去上层清液，剩余 100 $\mu\text{L}$  吹打混匀后涂于相应抗性的平板上，37℃过夜培养。

#### 单克隆摇菌：

1. 用灭菌的牙签或者 Tip 吸管挑取单菌落，加入到 4ml 含有 1%相应抗性的 LB 培养基的单管中，置于摇床中，37℃，200rpm 过夜培养，得到母液；
2. 吸取 50~100 $\mu\text{l}$  菌的母液，加入到 4ml 含有 1% 相应抗性和 1% 诱导剂（CopyCutter Induction solution）的 LB 培养基的单管中，置于摇床中，37℃，200rpm 过夜培养。



#### IV. 发货报告：

您所收到的基因合成等分子生物学服务发货报告是 RAR 格式的压缩文件。报告共含的文件信息如下：

- 1、Seq 格式文件——根据您提供订单序列生成的目的基因序列文件，可以使用 DNASTAR 或是 TXT 文本查看。
- 2、Abi 或 ab1 格式文件——测序彩图文件，该文件可以使用 Chromas 软件查看。
- 3、SQD 格式文件——将目的基因序列(Seq)和测序结果(abi 或 ab1)比对得到的 Alignment 文件，该文件可用 DNASTAR 软件查看。
- 4、PDF 格式文件——此类文件一般有 2 个，1 个是 SQD 格式文件的 PDF 版本，1 个是 QC 文件。