

Version 1.0

菌液及质粒 使用说明书

吉凯基因工具产品 售后反馈须知表

尊敬的客户，

您好！

感谢您订购、使用吉凯基因产品。

当您收到吉凯基因产品时，为保证您的实验效果，同时也为了能及时解决您实验中的问题，请您仔细阅读随货发送给您的**产品使用说明书**及我司提供给您的**电子版实验报告**，如出现任何产品质量或承诺问题，请您拨打公司客服专线：

400-621-0302，非工作时段可以通过吉凯基因微信公众号（扫描下方二维码可关注）的聊天窗口留言反馈，我司客服人员将于1-2个工作日内与您联系。我司客服会根据您订购的产品要求您提供相应的实验数据进行售后处理，具体数据要求请见下表：



扫码关注吉凯基因公众号

序号	问题类型	产品类型	需要提供的数据 (详细要求请扫描表末二维码)
1	靶点无效	RNAi产品	
2	无过表达	编码基因上调、 lncRNA上调、 miRNA-up、 Cas9-SAM类产品	a.细胞信息；感染/转染照片 b.qPCR引物序列 c.qPCR验证结果
3	靶点无效	Cas9-KO产品	基础数据： 细胞信息；感染/转染照片 针对不同验证方法需要再提供以下数据： a.错配酶法验证： PCR扩增引物序列、酶切活性验证结果 b.TA克隆测序验证： PCR扩增引物序列；PCR扩增电泳图谱； 单克隆测序结果 c.PCR产物测序验证： PCR扩增引物序列；PCR扩增电泳图谱； NC和靶点测序结果
4	菌液摇菌失败或者 质粒抽提浓度低	质粒、菌液类产品	关键实验步骤； 按照随产品发给您的《菌液及质粒操作手册》进行的实验情况
5	质粒/菌液测序异常	质粒、菌液类产品	测序引物序列；测序结果
6	病毒感染效率、荧光、 感染后细胞状态问题	病毒类产品	填写《吉凯基因病毒产品反馈表V2.0》
7	疑似污染问题	病毒类产品	填写《吉凯基因病毒产品反馈表V2.0》

序号	问题类型	产品类型	需要提供的数据 (详细要求请扫描表末二维码)
8	疑似污染问题	质粒、菌液类产品	填写《吉凯基因菌液质粒产品反馈表V2.0》
9	疑似污染问题	试剂类产品	照片
10	产品内外包装问题(标签、配发货单据、快递运输情况等)	所有产品	照片
<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p>扫描右侧 二维码</p> </div> <div style="text-align: center;">  </div> <div> <p>下载/查看文件：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 吉凯基因产品数据标准(详细标准) 2. 吉凯基因病毒产品反馈表V2.0 3. 吉凯基因菌液质粒产品反馈表V2.0 </div> </div>			

建议您提供**核心实验步骤**，同时如果您有其他实验结果可以反馈遇到的问题，也请您整理后一并提供给我们，我们将及时分析并快速解决您的问题。

菌液及质粒使用说明书

■ 菌种的活化

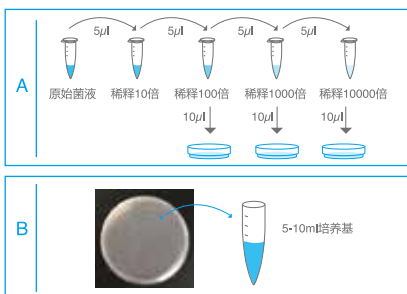
吉凯基因提供的菌种为含有15%甘油的大肠杆菌菌液，为了获得活力旺盛的菌体，应对菌种进行活化。

推荐使用菌液稀释涂板法和平板划线法，可获得活力更高的菌体。

直接接种法的优点是简便、省时，但活化成功率略低于前两种方法。

菌液稀释涂板法

1. 将菌液混匀后进行梯度稀释，分别稀释至100、1000、10000倍（图A）。
2. 取10 μ l分别均匀涂布到含有正确抗生素的固体培养平板表面，于37 $^{\circ}$ C培养箱中倒置培养12-16h。
3. 挑取平板上的单个菌落，接种于含有正确抗生素的液体培养基中（图B），37 $^{\circ}$ C，220rpm，振荡培养12-16h。
4. 取650 μ l新鲜菌液，加入150 μ l 80%甘油，混匀后保存于-80 $^{\circ}$ C。



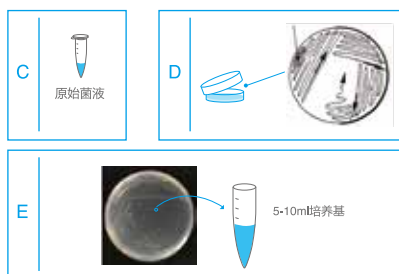
平板划线法

1. 将接种环在酒精灯上灼烧灭菌，完全冷却后蘸取适量菌液（图C），在含有正确抗生素的固体培养平板表面进行分区划线（图D）。

2. 将平板放在37 $^{\circ}$ C培养箱中倒置培养12-16h。

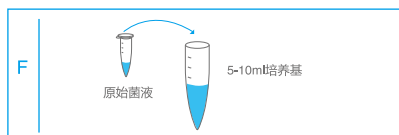
3. 挑取平板上的单个菌落接种于含有正确抗生素的液体培养基中（图E），37 $^{\circ}$ C，220rpm，振荡培养12-16h。

4. 取650 μ l新鲜菌液，加入150 μ l 80%甘油，混匀后保存于-80 $^{\circ}$ C。



直接接种法

1. 按照0.5-1%的接种比例，取适量菌液，加至含有正确抗生素的液体培养基中（图F），37 $^{\circ}$ C，220rpm，振荡培养12-16h。
2. 取650 μ l新鲜菌液，向其中加入150 μ l 80%甘油，混匀后保存于-80 $^{\circ}$ C。



■ 质粒的扩增

吉凯基因提供的质粒是采用进口试剂盒抽提的科研级质粒，可直接用于转化、转染等操作。若要得到更多质粒，需获取新鲜菌液，进行质粒抽提。所需菌液可以直接来自于菌种的活化，也可用吉凯提供的质粒进行转化、获得新鲜菌液。

菌液活化抽提法

通过“菌种的活化”的方法获得新鲜菌液，根据实验需求，选择合适的试剂盒进行质粒抽提。

质粒转化扩增法

1. 将质粒转化入大肠杆菌感受态细胞。质粒的用量及转化操作步骤请按照感受态细胞的使用说明书进行。
2. 从固体培养平板上，挑取单个菌落接种于适量含有正确抗生素的液体培养基中，37℃，220rpm振荡培养12-16h。
3. 根据实验需求，选择合适的试剂盒进行质粒抽提。

■ 注意事项

1. 请将收到的菌种储存于-80℃（也可暂存于-20℃），并于一周内完成活化。避免反复冻融，以降低菌种活性。
2. 请将收到的质粒产品储存于-20℃。如需多次使用，请分装后进行存放，避免反复冻融，以免质粒降解。
3. 液体培养基、固体培养平板中使用的抗生素应与菌液、质粒样品标签上的抗生素一致，否则会导致摇菌失败或平板上无菌落生长。
4. 配制含有抗生素的培养基时，应使培养基冷却至50℃左右，温度过高会导致抗生素降解，失去筛选功能。
5. 菌体活化操作必须在超净工作台内进行，并严格遵守无菌操作规范，防止噬菌体等的污染。
6. 采用直接接种法进行菌种活化时，应保证接种比例为0.5-1%，接种量过低可能会使菌种活化失败。建议做三组重复实验，保证活化成功率。
7. 质粒扩增实验中，若收集的菌液正常而抽提结果出现异常，请根据质粒抽提试剂盒的建议进行调整。

■ 主要试剂的配制

LB液体培养基

将10g Tryptone、5g Yeast extract、10g NaCl充分溶解于适量水中，用1N NaOH调节pH 7.5左右，定容1L，121℃灭菌20min。储存于4℃，储存时间不超过2周。使用前加入所需抗生素。

LB固体培养基

将10g Tryptone、5g Yeast extract、10g NaCl充分溶解于适量水中，用1N NaOH调节pH 7.5左右，加入15g琼脂粉，定容1L，121℃灭菌20min。待冷却至50℃左右时加入所需抗生素，混匀后铺入无菌平皿，使其冷凝。储存于4℃，储存时间不超过2周。

常用抗生素（推荐使用进口抗生素）

100mg/ml氨苄青霉素（ampicillin）

将1g氨苄青霉素充分溶解于10ml水中，0.22μm滤膜除菌，分装后于-20℃保存，使用时以1:1000比例加入培养基中。

50mg/ml卡那霉素（kanamycin）

将0.5g卡那霉素充分溶解于10ml水中，0.22μm滤膜除菌，分装后于-20℃保存，使用时以1:1000比例加入培养基中。

甘油（80%）

向80ml甘油中加水定容100ml，充分混匀，121℃灭菌20min。储存于4℃。

■ 相关产品

TOP10感受态细胞（Cat No. GRM602）

买病毒 上淘基因

每年平均为科研用户节约35% 的科研经费

吉凯商城账户激活流程：

第一步：微信小程序搜索【淘基因】；或者关注【吉凯基因】公众号点击底部：淘基因

第二步：进入小程序后，点击【我的】

第三步：点击顶部的【注册/登录】，授权手机号后填写个人信息完成注册

10,000名科研人都在学习的 8大精品直播课

免费网络
视频课程

从国自然热点研究—课题设计—工具病毒产品选择—实验操作轻松搞定

扫码或添加微信号

GeneChemV

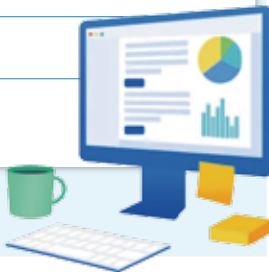
- 免费获取PPT及文献资料包
- 无限次免费观看课程
- 更有专业讲师群内实时答疑



· 热门课程主题 ·

01. 诺奖技术『**基因编辑**』的研究应用
02. 国自然热点——**非编码RNA**的研究策略与方法👍
03. 国自然热点『**环状RNA研究**』之实验设计及功能验证
04. **临床医生如何做好科研？**——23分心血管顶刊文章这样出炉👍
05. 如何利用『**过表达、RNAi、基因编辑**』有效调控基因表达👍
06. 细胞实验中如何**用好『慢病毒』**?👍
07. **神经环路**的研究策略及工具选择
08. 教会您如何**用好腺相关病毒AAV**👍

近20年病毒包装经验，年产病毒上万次
慢病毒、AAV、腺病毒、逆转录病毒、HSV等





联系地址：上海张江高科技园区爱迪生路326号

邮编：201203

邮箱：service@genechem.com.cn

客服电话：400-621-0302

www.genechem.com.cn