**一、扩增流程**

收到产品后，请先根据产品管壁标签来判断产品形式，并在扩增前准确查找该质粒菌株的抗性、感受态和培养温度。

**（一）干粉质粒**

产品规格： 约2μg质粒干粉，保证能转化出来，不保证具体含量，请务必先转化进感受态，再挑单菌落提取后再使用。

保质期限：90天，请尽快转化。

保存温度：一般在-20°C，置于-80°C保存时间更长。

运输方式：常温运输，1周内。

注意事项：转化前请准确查找该质粒相应的抗性、抗性浓度、感受态名称和培养温度。

使用说明：

1、收到质粒干粉后请先5000rpm离心1min,再加入20μl无菌水溶解质粒，室温放置1min；

2、从-80°C冰箱中取出相应的感受态，置于冰盒上解冻，并做好标记；

3、取2μl质粒加至100μl感受态中，冰浴30min;

4、42°C热激90s，再冰浴2min;

5、加入900μl无抗的LB液体培养基，180rpm震荡培养45min;

6、6000rpm离心5min，仅留100μl上清混匀菌体沉淀；

7、混匀后的菌液加至对应抗性的LB平板上，倒入适量玻璃珠，涂匀液体；

8、将平板正向培养1h，再倒置培养12h～16h;

9、挑取单克隆菌落至对应抗性的LB液体培养基中，震荡培养12h~16h，根据实验需要提取质粒。

注意：如果第二天转化平板长的过多，请将质粒按比例稀释后再转化。

**（二）甘油菌种**（冰袋运输，存于-80℃，保质期90天，请务必划线挑单克隆培养）

产品规格：甘油菌种。

保质期限：90天，请尽快划线培养。

保存温度：-80℃。

运输方式：冰袋运输，1周内。

注意事项：培养前请准确查找该菌种的抗性、抗性浓度和培养温度。

使用说明：

1、收到甘油菌种后请甩动保存管，让菌液不要吸附在管壁上；

2、用接种环在固体平板上四区划线，如有抗性就加对应抗性；

3、恒温培养箱倒置培养12~16h；

4、挑取单菌落接种于液体培养基中，如有抗性就加对应抗性；

5、摇床震荡培养12~16h，根据实验需要保存甘油菌，酵母加30% 甘油，其它一般加15%甘油。

注意：务必要四区划线挑单菌落培养。

**（三）穿刺菌种**（冰袋运输，存于4℃，保质期7天）

穿刺接种，液体培养后四区划线，再挑单菌落液体培养。

4、菌落平板（冰袋运输，存于4℃，保质期7天）

直接挑取单菌落至液体培养基中。

5、液体质粒（冰袋运输，存于-20℃，保质期90天）（强烈推荐委托我们大提）

单独提取的液体质粒收到后可直接使用。

6、滤纸质粒（常温运输，存于-20度，保质期90天，请务必先转化提质粒后使用）

收到货后将滤纸画圈部分剪下放入EP管中，加100ul无菌水将滤纸浸湿并浸泡5min，吸取5ul质粒转化，离心全涂。

**转化图片**

