Order: 010-62617225 Technical: 010-62979301 Email: zomanbio@126.com



本产品仅供科研使用,请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

版本号:2020-07-20

GT115感受态细胞 GT115 Chemically Competent Cell Cat.NO. ZC1033

目录编号	产品名称	包装单位
□ ZC1033-1	GT115感受态细胞	10×100µl
□ ZC1033-2	GT115感受态细胞	20×100μl

备注:以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/µl) 5µl(质量控制用)。

储存: -70°C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 GT115 化学感受态细胞是经特殊工艺处理得到的感受态细胞,可用于 DNA 的化学 转化。使用 pUC19 质粒 DNA 检测,转化效率高达 10^8 cfu/ μ g DNA 以上。

基因型为: F mcrA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) f80lacZDM15 Δ lacX74 recA1 rpsL (StrR) endA1 Δ dcm uidA(DMluI)::pir-116 Δ sbcC-sbcD

产品特点:

GT115菌株,是专门用来克隆含有发夹结构(Hairpin)或重复序列等DNA二级结构的基因序列的大肠杆菌菌株。大肠杆菌中存在一种SbcCD蛋白复合体,可以识别DNA发夹结构,并将其切除;将sbcC和sbcD两个基因突变,增强了发夹结构DNA的稳定性。同时在大肠杆菌基因组中引入uidA(DMluI)::pir-116,使GT115可以表达 兀蛋白,含有R6Kg ori复制子的质粒(pCpG-mcs、pCpG-LacZ、pCpG-siRNA ···)可以正常复制。该菌株还含有具有核酸酶 (endA)突变、重组酶 (recA)突变,增强了外源DNA的稳定性。此菌株具有链霉素抗性。

操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- 转化:取感受态细胞置于冰浴中(解冻 1-2 分钟),加入目的 DNA,轻轻混匀,在冰浴中放置 30 分钟。 注意:所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10,100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激**: 将离心管置于 42℃水浴中放置 60-90 秒,然后快速将管转移到冰浴中,使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- 复苏:向每个离心管中加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基(不含抗生素),混匀后置于 37°C 180rpm 摇床振荡培养 45-60 分钟,目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达,使菌体复苏。
- ■涂板: 根据实验要求(质粒,重组连接产物转化),吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相 应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上,将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体 被吸收,倒置平板,37°C培养 12-16 小时。

提示:

- · 刚刚化冻的细胞,转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下,半小时内活性无明显变化,因此,同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- ·感受态细胞应保存在-70°C,请避免反复冻融,以免降低感受态细胞的转化效率。
- ·进行转化操作时,请在无菌条件下,根据相应温度要求进行实验。
- ·避免用移液枪吹吸,整个过程要轻柔,尽量低温操作。
- · 为防止转化实验不成功,可以保留部分连接反应液,以重新转化,将损失降到最低。

北京庄盟国际生物基因科技有限公司