



GT115 电转感受态细胞

GT115 Electroporation Competent Cell

Cat.NO. ZC1033D

目录编号	产品名称	包装单位
☐ ZC1033D-1	GT115 电转感受态细胞	50 μ l $\times$ 5
☐ ZC1033D-2	GT115 电转感受态细胞	50 μ l $\times$ 20

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

储存: -70 $^{\circ}$ C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 GT115 电转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 的电转转化。使用 pUC19 质粒 DNA 检测, 转化效率高达 10^{10} cfu/ μ g DNA 以上。

基因型为: F mcrA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) f80lacZDM15 Δ lacX74 recA1 rpsL (Str^R) 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 π 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。

操作方法:

1. 0.1cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5min, 待其沥干水分, 正置 5min, 使乙醇充分挥发, 待乙醇挥发干净立即插入冰中, 压实冰面, 电极杯顶离冰面 0.5cm 以方便盖上杯盖, 冰中静置 5min 充分降温。

2. 取 -70 $^{\circ}$ C保存的电击感受态细胞插入冰中 5min, 待其融化, 加入目的 DNA(质粒或连接产物) 并用手拨打离心管底轻轻混匀, 避免产生气泡, 立即插入冰中。

A. 测定转化效率使用 1 μ l 0.1ng/ μ l 的对照质粒 pUC19;

B. 对于连接产物, 请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液 (10mM Tris-HCl, pH7.5; 1mM EDTA) 重悬, DNA 浓度不超过 100ng/ μ l, 体积不超过 5 μ l/50 μ l 感受态。

3. 用 200 μ l 枪头将感受态 -DNA 混合物快速移到电击杯中, 避免产生气泡, 盖上杯盖。

4. 启动电转仪, 设置参数: C=25 μ F, PC=200 Ω , V=1.8kV(BioRad 电转仪推荐参数); 或 C=25 μ F, PC=200 Ω , V=2.4kV(BTX ECM 630 或 Bio-Rad GenePulser 电转仪推荐参数); 也可按所用电转仪推荐的参数操作。将电击杯快速放入电转槽中, 电击完成快速插入冰中。



5. 2min 后从冰中取出电击杯, 放室温, 加入 700 μ l 不含抗生素的无菌 S.O.C. 培养基(室温), 用 1ml 枪吹吸电击杯底部数次混匀后, 转移到 50ml 离心管(BD Falcon 50ml 锥形离心管等), 向离心管中补加 S.O.C. 培养基至 5ml. 37°C, 225rpm 复苏 60min。

6. 5000rpm 离心 1min 收菌, 重悬后取 100-200 μ l 涂布到含相应抗生素的 S.O.C 平板上(因菌量较大, 若全部涂板请选用直径 15cm 培养皿 2-5 个)。将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养 13-17h。

注意事项：

1. 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 电击感受态细胞加入电击杯应避免产生气泡, 气泡会增加弧光放电风险。
3. DNA 加入到细胞中后, 立即进行电击操作; 电击完成后立刻加上 LB 或 SOC 等复苏培养基, 每分钟延迟加入会导致 3 倍转化效率的降低。
4. 电击杯里的离子可增加溶液的电导增大在含有细胞和 DNA 的溶液中产生电流和弧光放电的风险。
5. 当 DNA 不纯或存在盐, 乙醇, 蛋白及缓冲液等污染时, 转化效率急剧下降。
6. 若转化大质粒或想获得较高转化效率, 推荐使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒。质粒增大一倍, 转化效率下降一个数量级。
7. 对于连接产物转化, 最好转化前乙醇沉淀 DNA 后用适量 TE 缓冲液 (10mM Tris HCl, pH7.5; 1mM EDTA) 重悬产物, 保证 DNA 浓度不超过 100ng/ μ l。过高浓度连接产物或过大体积连接产物会降低转化效率, 增加弧光放电的风险。
8. 混入质粒时应轻柔操作, 吸取感受态细胞时不可用孔径过小的枪头 (普通 200 μ l 枪头应剪去枪头尖 0.6cm) 避免用力过猛, 以免剪切力过大损伤细胞膜, 降低转化效率。转化高浓度的质粒或连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
9. 电击感受态细胞最好保存在 -70°C 以下, 高于 -70°C 超期储存会导致转化效率下降。

ZOMANBIO