



ET12567 Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC134)

ET12567 :	100μl/支
pUC19 (control vector, 0.1ng/μl):	5μl
保存条件(保质期) :	-80°C (6 个月)

产品介绍

ET12567(pUZ8002)是甲基化缺陷型菌株。大部分链霉菌能够通过甲基修饰系统区分出自身 DNA 和外来 DNA, 所以需要转入到链霉菌中的质粒都必须利用 ET12567(pUZ8002)通过结合转移的方法进入链霉菌体内。如果使用的链霉菌不含有甲基化修饰系统, 那么使用 DH5α(pUZ8002)菌株也是可以完成结合转移的。ET12567(pUZ8002)在培养的过程中加入 25μg/ml 氯霉素和 25μg/ml 卡那霉素有助于维持细胞内的伴侣质粒存在。ET12567(pUZ8002)主要用来进行链霉菌基因操作过程中, 利用结合转移的方法将基因导入到链霉菌中, 链霉菌基因敲除或者基因倍增过程中全球通用和认可的菌株。pUZ8002 质粒含有 tra 基因, 能够编码转移蛋白 Tra, 从而实现基因 DNA 转移。ET12567(pUZ8002)配套使用载体是 pSET152 和 pKC1139。ET12567 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率 > 10⁶ cfu/μg DNA。

基因型 : F- dam-13::Tn9 dcm-6 hsdM hsdR zjj-202::Tn10 recF143 galK2 galT22 ara-14 lacY1 xyl-5 leuB6 thi-1 tonA31 rpsL136 hisG4 tsx-78 mtl-1 glnV44

操作方法

1. 取感受态细胞置于冰浴中 (解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA (质粒或连接产物), 轻轻混匀, 在冰浴中放置 25 分钟。

注意: 所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞体积的 1/10。

2. 将离心管置于 42°C 水浴中放置 60 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2 分钟, 该过程不要摇动离心管。

3. 向每个离心管中加入 700μl 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。

4. 根据实验要求, 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。

注意事项

1. 感受态细胞需要在冰中缓慢融化, 插入冰中 10 分钟内加入目标 DNA, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。

2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作, 避免用移液枪吹吸。

3. 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。

4. 感受态细胞应保存在 -80°C, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。

5. 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, 将损失降低到最低。

6. 由于此感受态细胞转化效率较低; 为了更好的实验效果, 建议至少转入 100ng 以上质粒, 取 1/3 以上复苏后菌液涂板; 否则有可能转化失败。