



## GT115 Chemically Competent Cell 产品说明书

### 产品规格 (CAT#: YC137)

GT115 :	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

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  $\pi$  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。GT115 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 检测转化效率  $> 2 \times 10^8$  cfu/μg DNA。

**基因型:** *F mcrAΔ(mrr-hsdRMS-mcrBC) f80lacZDM15ΔlacX74 recA1 rpsL (Str<sup>R</sup>) endA1 Δdcm uidA(DMluI)::pir-116ΔsbcC-sbcD*

### 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。