



PIR1 Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC148)

PIR1 :	100 μ l/支
pUC19 (control vector , 0.1ng/ μ l):	5 μ l
保存条件(保质期) :	-80 $^{\circ}$ C (6 个月)

产品介绍

大肠杆菌 PIR1 和 PRI2 可用于复制含有 R6K γ 复制子的载体 ; pir 基因编码复制蛋白 π , 该菌株带有的 pir 基因突变能够帮助维持和复制含有 R6K γ 复制子的质粒。经 pUC19 质粒转化检测 , PIR2 感受态细胞的转化效率可达 10^8 cfu/ μ g DNA。

基因型 : F - Δ lac169 rpoS (Am) robA1 creC510 hsdR514 endA recA1 uidA (Δ MluI)::pir

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 $^{\circ}$ 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 700 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基(不含抗生素),混匀后置于 37 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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。