

T1 Phage Resistant 感受态细胞说明书

货号: AC10820

规格: 10×100ul / 20×100ul

保存: -70℃保存, 运输为干冰包装。-70℃保存至少 6 个月。

产品简介:

本公司生产的 TI Phage resistant 化学感受态细胞经特殊工艺制作,可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒 DNA 检测,转化效率高达 109cfu/ug DNA 以上。

基因型: F- ϕ 80(lacZ) Δ M15 Δ lacX74hsdR(r_k^- , m_k^+) Δ recA1398endAltonA

特点: TI Phage Resistant 感受态细胞是目前生长速度最快的感受态细胞,在氨苄青霉素平板上,8-9 小时可见克隆;用于蓝、白斑筛选,12 小时可见蓝斑;将过夜培养的单克隆在 2ml 的 LB 培养基中培养 45 小时即可进行小量质粒提取;适用于高效的 DNA 克隆和质粒扩增,减少克隆 DNA 同源重组的发生,提高质粒 DNA 的产量和质量;具有 T1, T5 噬菌体抗性。

操作方法: (以下操作均按无菌条件的标准进行)

- 1、将感受态细胞置于冰上融化,以下实验以 100ul 感受态细胞为例。
- 2、向感受态细胞悬液中加入需转化的目的 DNA,注意目的 DNA 的体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一,轻轻旋转离心管以混匀内容物,冰浴放置 30 分钟。
- 3、将离心管置于 42℃水浴中 60-90 秒,然后快速转移到冰浴中放置 2-3 分钟,注意不要摇动离心管。
- 4、向离心管中加入 500ul 无菌无抗的 SOC 或 LB 培养基,37℃ 180rpm 振荡培养 1 小时。目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达,使菌体复苏。
- 5、取适量已转化的感受态细胞涂布含相应抗生素的 SOC 或 LB 平板,37℃倒置培养 12-16 小时。涂布用量可根据具体实验来调整,如转化的 DNA 总量较多,可取 100ul 左右的转化产物涂板;反之,如转化的 DNA 总量较少,可取 200-300ul 的转化产物涂板。过多菌液可以抑制细菌生长。如果预计的克隆较少,可通过离心后吸除部分培养液,悬浮菌体后将其涂布于一个平板中。涂布剩余的菌液可 4℃保存,如果次日的转化菌落数过少,可以将剩下的菌液再涂布新的平板。

注意事项:

- 1、感受态细胞应保存在-70℃,不可反复冻融,否则其转化效率将会降低。
- 2、实验过程中应严格无菌操作,防止其它 DNA 或杂菌的污染,避免为以后的筛选、鉴定带来影响。
- 3、转化时,转化效率与外源 DNA 的浓度在一定范围内成正比,但当加入的外源 DNA 量过多或体积过大反而会降低转化效率。转化时 DNA 体积要小于感受态细胞体积的十分之一。
- 4、转化率的计算: 转化率=产生菌落的总数/铺板 DNA 总量。
- 5、为防止转化实验不成功,可以保留部分连接产物,以重新转化,将损失降到最低。