



ET12567(pUZ8002)感受态细胞

ET12567(pUZ8002) Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1030

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1030-1	ET12567(pUZ8002)感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC1030-2	ET12567(pUZ8002)感受态细胞	20×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl) 5μl (质量控制用)。
储存: -70°C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 ET12567 化学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 的化学转化。使用 pUC19 质粒 DNA 检测, 转化效率高达 10^6 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: 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

产品特点:

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。

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。

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。

操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:**取感受态细胞置于冰浴中(解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置 30 分钟。
注意:所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:**将离心管置于 42°C 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- **复苏:**向每个离心管中加入 500μl 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。
- **涂板:**根据实验要求 (质粒, 重组连接产物转化), 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。

提示:

- 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下, 半小时内活性无明显变化, 因此, 同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70°C, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 请在无菌条件下, 根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸, 整个过程要轻柔, 尽量低温操作。
- 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, 将损失降到最低。
- **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。**