



dam-/dcm-感受态细胞

产品信息:

组成	BC122-01
dam-/dcm-	20×100μl
pUC19 质粒	5μl

储存条件: -70℃保存，避免反复冻融。不适合在液氮中保存。

产品介绍:

本公司生产的dam-/dcm-感受态细胞是采用大肠杆菌dam-/dcm-菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞。dam-/dcm-菌株来源于大肠杆菌K12菌株，该菌株为dam和dcm甲基化酶失活突变型菌株，常用于质粒DNA的去dam和dcm甲基化处理，消除dam和dcm甲基化对酶切的影响。核酸内切酶 (endA1)基因的缺失有利于提高质粒DNA的产量和质量。甲基化酶的失活突变可能会导致质粒DNA在该菌株中会出现突变，不建议连接产物的转化实验，仅用于质粒转化。菌株还具有抗T1噬菌体感染的特点。pUC19质粒检测转化效率 $> \times 10^6$ cfu/μg DNA。

基因型: *ara-14 leuB6 fhuA31 lacY1 tsx78 glnV44 galK2 galT22mcrA dcm-6 hisG4 rfbD1 R(zgb210::Tn10) Tet^S endA1 rspL136 (Str^R)dam13::Tn9 (Cam^R) xylA-5 mtl-1 thi-1 mcrB1 hsdR2*

菌株抗性: 对氯霉素、链霉素有抗性；对氨苄青霉素、卡那霉素、壮观霉素和四环素敏感。

质粒转化步骤:

- 1.将感受态细胞置于冰水浴中化冻。待细胞刚化冻后，加入 1-5μl 含有 1-100ng 的质粒 DNA 到细胞中，用手指拨打管底，轻轻混匀。
- 2.冰水浴中放置 30 分钟，不要晃动。
- 3.42℃热击 60 秒钟，不要晃动。
- 4.冰水浴中放置 2 分钟，不要晃动。
- 5.加入 500μl 的室温 SOC 或 LB 培养基。
- 6.置于 37℃摇床中，150-200rpm 震荡复苏培养 60 分钟。
- 7.取 50-100μl 菌液涂布在含有抗性的 LB 平板上。待液体吸干后，倒置平板，37℃培养 12-18 小时。

(**平板划线分离法:** 复苏培养结束后，12000rpm 离心 30 秒钟，弃掉上清，留 100μl 左右的液体，用 200μl 吸头轻轻吹打散菌块，取 10μl 重悬的菌液分多点滴在平板上，倾斜吸头，用吸头头部的侧面将滴在平板上的液体来回划线。这个方法可以获得更大的单克隆菌落。此方法主要适用于质粒转化，连接产物转化最好用涂布法。)

(**质粒快速转化步骤:** 将步骤 2 的时间缩短到 5 分钟，对于氨苄青霉素抗性的质粒，步骤 4 完成后，可直接涂布或划线于含氨苄青霉素抗性的 LB 平板上。其它抗性的质粒仍需 60 分钟的复苏培养。)

BM191224