



OmniMAX2-T1 感受态细胞

产品信息:

组成	BC107-01	BC107-02
OmniMAX2-T1 Competent cells	10×100μl	20×100μl
pUC19 (0.1ng/μl)	5μl	5μl

储存条件: -70℃保存，避免反复冻融。

产品介绍:

本公司生产的 OmniMAX2-T1 感受态细胞是采用大肠杆菌 OmniMAX2-T1 菌株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 质粒检测，转化效率可达 10^8 cfu/μg，-70℃保存几个月转化效率不发生改变。每支感受态可以酌情分装使用，降低了实验的成本。质量稳定，使用方便，质优价廉。

基因型:

F'{*proAB+lacIqlacZAM15Tn10(TetR)Δ(ccdAB)*}*mcrAA(mrr-hsdRMS-mcrBC)φ80(lacZ)ΔM15Δ(lacZYA-argF)U169endA1recA1supE44thi-1gyrA96relA1tonApanD*

抗生素耐药性: 细胞具有四环素抗性。

产品特点:

1. 消除了 *mcrA*，*mrr*，*mcrBC*和*hsdRMS*限制系统，高效克隆甲基化DNA，可用于文库构建；
2. 具有T1、T5噬菌体抗性，保护样品免受噬菌体的污染；优化的基因型，避免DNA重排；
3. 可用于蓝、白斑筛选；
4. 制备单链DNA。

操作步骤（以下操作均按无菌条件的标准进行）：

提示

- ◆ 感受态细胞应保存在-70℃，不可多次冻融和放置时间过长，以避免降低感受态细胞的转化效率。
 - ◆ 进行转化操作时，应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
 - ◆ 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。
1. 取感受态细胞置于冰浴中，如需分装可将刚融化细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中，置于冰浴中。
(一次转化感受态细胞的建议用量为 50-100μl，可以根据实际情况分装使用。应注意所用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一。)以下实验以 100μl 感受态细胞为例。

2. 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA (100 μ l 的感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和), 轻轻旋转离心管以混匀内容物, 在冰浴中静置 30 分钟。
3. 将离心管置于 42 $^{\circ}$ C 水浴中放置 60 秒钟, 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。(此步骤也可将离心管置于室温进行, 时间不需十分准确, 夏季或室温较高时, 可放置 5-8 分钟左右; 如果室温较低, 可延长时间至 8-15 分钟左右。**条件允许建议使用 42 $^{\circ}$ C 热激方法。**)
4. 向每个离心管中加入 500 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37 $^{\circ}$ C, 150rpm, 摇床振荡培养 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。
5. 无菌条件下, 取适量菌液加到含相应抗生素的 LB 固体培养基平板上, 用无菌的细菌涂布器或玻璃珠将细胞均匀涂开。等平板中的液体完全吸收后, 倒置平板, 37 $^{\circ}$ C 培养 12-16 小时。(涂布用量可根据具体实验来调整。转化质粒在 10ng 左右, 90mm 平皿涂布 100 μ l, 55mm 平皿涂布 50 μ l; 连接产物的转化菌液建议离心后倒掉大部分上清, 余 200 μ l, 取 100 μ l 用于涂布。)
6. 保留剩余的菌液于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中, 视平板上菌落生长情况决定去留。

相关试剂及培养基的制备方法:

1. LB 液体培养基: 称取 10g Tryptone, 5g Yeast Extract 和 10g NaCl 置于 1L 烧杯中。加入约 800ml 的去离子水, 完全溶解后用 2mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 值至 7.0。加去离子水定容至 1L。分装后, 121 $^{\circ}$ C 高压灭菌 20 分钟。
2. SOB 和 SOC 培养基: 称取 20g Tryptone, 5g Yeast Extract, 0.5g NaCl 置于 1L 烧杯中加入约 800ml 的去离子水, 完全溶解后再补加 10ml 250mM KCl 溶液, 滴加 5M NaOH (约 0.2ml) 调 pH 至 7.0。加入去离子水将培养基定容至 1L。121 $^{\circ}$ C 灭菌 20 分钟。使用时加入 5ml 灭菌的 2M MgCl₂ 溶液 (此种培养基称为 SOB)。再补加经 0.22 μ m 过滤除菌的 1M 葡萄糖溶液 2ml (此种培养基为 SOC)。
3. 转化复苏细菌用的液体 LB 培养基或 SOC 培养基: 可以一次高压 50ml 液体培养基, 无菌状态按 1ml 每管分装于高压灭菌的 1.5ml 离心管中, 装于自封袋中, 冻存于 -20 $^{\circ}$ C 中, 每次用一支。可以极大地避免培养基污染和减少劳动量。
4. LB 固体选择培养基: 100ml LB 液体培养基中加入 1.5g 琼脂粉, 摇匀后, 121 $^{\circ}$ C 高压灭菌 20 分钟。冷却至 50 $^{\circ}$ C 左右时加入相应浓度的抗生素 (如 AMP 浓度通常为 100 μ g/ml), 混匀后倒在细菌用的无菌培养皿中, 等琼脂凝固后即可使用。
5. IPTG: 称量 1.9g IPTG (MW=238.31) 充分溶解于 40ml 灭菌水, 浓度为 200mmol/L。用无菌 0.22 μ m 过滤膜过滤除菌。小份分装后, -20 $^{\circ}$ C 保存。
6. X-gal: 用 DMF (二甲基甲酰胺) 配制成 20mg/ml, 小份分装 (1ml/份) 后, -20 $^{\circ}$ C 避光保存。