



# GT115 感受态细胞

## 产品信息:

组成	BC126-01
GT115 Competent cells	20×100μl
pUC19 (0.1ng/μl)	5μl

**储存条件:** -70℃保存, 避免反复冻融。

## 产品介绍:

GT115 菌株基因组中含有 *pir* 基因, 能够表达  $\pi$  蛋白, 用于识别 R6K 复制起始子。携带 R6K 复制起始子的质粒 (如 pCpGL-Basic, pCpGL-CMV/EF1 等) 可在该菌株中复制扩增。通过删除基因组中 *sbcC* 和 *sbcD* 两个基因, 使 GT115 细胞内不能形成识别和切割发夹结构的 SbcCD 复合体, 增强含发夹结构 DNA 的质粒在细胞内的稳定性。该菌株含有 *rpsL* (*StrA*) 基因, 对链霉素有抗性。该菌株具有核酸酶 (*endA*) 突变、重组酶 (*recA*) 突变, 增强了外源 DNA 的稳定性。GT115 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 检测转化效率  $>1 \times 10^8$  cfu/ $\mu$ g DNA。

**基因型:** F<sup>-</sup> *mcrA*  $\Delta$ (*mrr*-*hsdRMS*-*mcrBC*)  $\phi$ 80*lacZ* $\Delta$ M15  $\Delta$ *lacX74* *nupG* *recA1* *araD139*  $\Delta$ (*ara-leu*)7697 *galE15* *galK16* *rpsL*(*StrA*) *endA1*  $\Delta$ *dcnA*  $\Delta$ (*MLu1*)::*pir*-116  $\Delta$ *sbcC*-*sbcD*

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

## 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, 加入质粒 DNA 或 5-10 $\mu$ l 连接产物到细胞中, 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 500 $\mu$ l 无菌的 LB 培养基;
6. 置于 37℃摇床中, 150-200rpm 震荡复苏培养 60 分钟;
7. 取 50-100  $\mu$ l 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℃过夜培养。

(**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 100 $\mu$ l 左右的液体, 用 200 $\mu$ l 吸头轻轻吹打散菌块, 取 10 $\mu$ l 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:** 对于氨苄青霉素抗性的质粒, 将步骤 2 的时间缩短到 5 分钟, 完成步骤 4 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。)