MC1061 大肠杆菌化学感受态细胞

产品信息：

组成	BC136-01
MC1061 Competent cells	10×100 µl
pUC19（0.1 ng/µl）	5 µl

储存条件：-70℃保存，避免反复冻融。

产品说明：

MC1061 是一种 recA$^+$大肠杆菌菌株，具有完整的同源重组系统，可用于需要在大肠杆菌中进行基因重组操作的应用，例如通过重组对大肠杆菌进行基因工程改造，或进行质粒-噬菌体重组。该菌株也用于多种革兰氏阳性细菌质粒 DNA 的克隆和扩增，例如用于在乳酸乳球菌（Lactococcus lactis）中表达的质粒（如 pNZ8048、pNZ8148、pMG36e 等），以及枯草芽孢杆菌（Bacillus subtilis）质粒（如 pNZ8901、pZL205、pDG268ne 等）。MC1061 大肠杆菌感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率大于 10^8 cfu/µg。

基因型：*F- Δ(ara-leu)7697 [araD139] B/r Δ(codB-lacI)3 galK16 galE15 λ- e14- mcrA0 relA1 rpsL150(StrR) spoT1 mcrB1 hsdR2(rm+)*

菌株抗性特点：该菌株有链霉素抗性，但对氨苄青霉素、壮观霉素、卡那霉素、四环素和氯霉素敏感。

转化步骤：

1. 取感受态细胞置于冰水浴中解冻。待其刚刚融化时，加入目的质粒 DNA 或 5-10 µl 连接产物，用手指轻弹管底，混匀。
2. 将混合物继续在冰水浴中静置 30 分钟，期间请勿晃动。
3. 迅速转移至 42℃水浴，热激 60 秒，过程中勿移动离心管。
4. 立即放回冰水浴，静置 2 分钟，勿晃动。

（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的固体平板上。其他抗性的质粒仍需要加培养基复苏培养，待质粒上的抗性基因表达产物表达（如质粒上的 Kan 基因表达卡那霉素磷酸转移酶）后才能涂布。）

5. 加入 500-1000 µl 无菌 SOC 或 LB 培养基。
6. 置于 37℃摇床中，以 150–200 rpm 振荡培养 60 分钟，进行复苏。
7. 取 50–100 µl 菌液，涂布于含相应抗生素的 LB 平板上。待菌液被平板吸收后，倒置平板，于 37℃培养 12–16 小时。

附：平板划线分离法（可选）

1. 复苏培养结束后, 12,000 rpm 离心 30 秒，弃去大部分上清，保留约 100 µl。
2. 使用 200 µl 吸头轻柔吹打，重悬菌体。
3. 取 10-50 µl 菌液，在抗性平板的不同位置点若干液滴。
4. 倾斜吸头，以其侧面将液滴在平板表面来回交叉划线将液滴划开。
5. 待平板稍干后，倒置平板并于 37℃培养 12–16 小时。

该方法有助于获得分散的、更大的单克隆菌落。

20261029