

DB3.1 感受态细胞

DB3.1 Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G2010

保存条件: -80℃

产品规格: 10×100μl 50×100μl

产品介绍

基 因 型

F- gyrA462 endA1 glnV44 (sr1-recA)mcrBmrrhsdS20(rB-,mB-)ara14galK
2lacY1proA2rpsL20(Smr) xyl5 Δ leu mtl1

简 要 说 明

DB3.1 大肠杆菌菌株基因组中含有 gyrA462 基因，赋予其对 ccdB 毒性基因的

抗性，特别适用于构建或扩繁含有 **ccdB** 基因的质粒载体（例 **GATEWAY System vector**），此菌株具有链霉素抗性。MLBio High5™ 系列 DB3.1 感受态细胞经特殊工艺制作，经 **pUC19** 检测转化效率 $>10^8$ cfu/ μ g DNA。

操作说明

1.MLBio DB3.1 感受态细胞放置冰中融化（或放手心或室温片刻，待菌体处于冰水混合状态时迅速插入冰中），加入目的 **DNA**（质粒或连接产物）并用手拨打 EP 管底轻轻混匀，冰上静置 **25** 分钟。

2.42℃ 水浴热激 **45** 秒，迅速放回冰上并静置 **2** 分钟，晃动会降低转化效率。

3.向离心管中加入 **0.9 mL** 室温 **S.O.C.** 培养基或 **LB** 培养基（推荐使用 **SOC** 培养基，可提高转化效率）。

4.30℃，**225 rpm** 复苏 **90** 分钟。（当质粒中含有不稳定片段时，30℃ 培养可降低错误重组的概率，若转化 control **PUC19** 计算转化效率，则需 **37℃**，**225 rpm** 复苏 **60** 分钟。）

5.5000rpm 离心一分钟收菌，留取 **100 μ l** 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 **S.O.C.** 培养基上。

6.将平板倒置放于 **30℃** 培养箱过夜培养。（若转化 control **PUC19** 计算转化效率，则需 **37℃** 培养过夜）

注意事项

- 1.感受态细胞最好在冰中缓慢融化，插入冰中 8 分钟内加入目标 DNA，不可在冰中放置时间过长，长时间存放会降低转化效率。
- 2.混入目的 DNA 时应轻柔操作。
3. 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。