

MC1061F'电击转化感受态使用说明

产品规格

品名	货号	规格
MC1061F'电击转化感受态	EL029-H-S	5×50 μL
	EL029-H-M	10×50 μL

保存条件: -80℃ (12 个月)

产品简介

MC1061F-电击感受态细胞只能用于电击转化,不能用于热激转化。MC1061F-菌株来源于 E.coli B/r 型 SB3118 菌株,同时也是 DH10b 及 TOP10 的母本菌株。MC1061F-化转感受态细胞转化效率极高,可用作实验室的常规质粒构建及噬菌体展示实验,但缺乏 F' 因子,不能用于丝状噬菌体(比如 M13)的感染。不含核酸酶 endA1 突变,体内核酸酶含量较高,提取质粒时务必使用质粒提取试剂盒中去蛋白液尽量去除核酸酶对质粒的污染。此菌株具有链霉素抗性。MC1061F-电击感受态细胞经 pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率>10¹⁰ cfu/μg DNA。

基因型

araD139 Δ (araA-leu)7697 Δ(lac)X74 galK16 galE15(GalS) lambda- c14- mcrA0 relA1 rpsL150 (Str^R) spoT1 mcrB1 hsdR2

转化方法

1. 取适量睿必特复苏液置 37 度预热 1-2 小时(每管感受态准备 10ml 复苏液)。
2. 杀菌处理后的 0.1 cm 电击杯和杯盖插入冰中,压实冰面,电击杯顶离冰面 0.5 cm 以方便盖上杯盖,冰中静置 5 分钟充分降温。
3. 取-80℃保存的电击感受态细胞插入冰中 5 分钟,待其融化,加入目的 DNA(质粒或连接产物)并用手拨打 EP 管底轻轻混匀,避免产生气泡,立即插入冰中。

(A) 对于连接产物,部分公司的 T4 连接酶体系或重组体系可与电击感受态混合后电击转化,无需进行 DNA 纯化,但 DNA 浓度不能过高, DNA 浓度不超过 100 ng/μl,

Biorabbit

体积不超过 1/10 感受态。

(B) 对离子浓度较高的 DNA 溶液或反应体系请用膜纯化或乙醇沉淀法纯化 DNA, ddH₂O 溶解后电击转化。

4. 用 200 μ l 枪头(用刀切除 0.5cm 枪尖)将感受态-DNA 混合物快速移到电击杯中(避免产生气泡), 轻轻晃动使液面保持水平状态, 盖上杯盖, 插入冰中。
5. 启动电转仪, 设置参数: C=25 μ F, PC=200 Ω , V=1.8 kV, 将电击杯从冰中拿出, 用吸水纸擦拭表面, 吸干表面水渍, 放入电转槽中, 电击完成后拿出电转杯放室温, 打开杯盖, 15 秒内加入 0.9ml 预热的睿必特复苏液(此步骤可在电转仪旁操作, 无需在超净台操作), 用 1ml 枪吹吸电击杯底部 2-3 次, 混匀后转移到 50 ml 离心管, 向离心管中补加培养基至 10 ml。37°C, 250 rpm 复苏 60 分钟。
6. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 重悬后取 100-200 μ l 涂布到含相应抗生素的平板上(因菌量较大, 若全部涂板请选用培养皿 2-5 个)。将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养 13-17 小时。

注意事项

1. 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 电击感受态细胞加入电击杯应避免产生气泡, 气泡会增加弧光放电风险。
3. 当 DNA 不纯或存在盐, 乙醇, 蛋白及缓冲液等污染时, 转化效率急剧下降。
4. 电击杯里的离子可增加溶液的电导, 增大在含有细胞和 DNA 的溶液中产生电流和弧光放电的风险。
5. 若转化大质粒或想获得较高转化效率, 推荐使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒。
6. 对于连接产物, 最好用膜纯化或乙醇沉淀法纯化 DNA 后用适量 ddH₂O 或 TE 缓冲液重悬产物, 保证 DNA 浓度不超过 100 ng/ μ l。过高浓度连接产物或过大体积连接产物会降低转化效率, 增加弧光放电的风险。
7. 混入质粒时应轻柔操作, 吸取感受态细胞时避免用力过猛, 以免剪切力过大损伤细胞膜, 降低转化效率。转化高浓度的质粒或连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
8. 电击感受态细胞最好保存在 -80°C 以下, 高于 -80°C 超期储存会导致转化效率会下降。