

GT115 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL1090)

GT115 Competent Cell	100μl /支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件 (保质期) :	-80°C (6 个月)

● 基因型

F mcrAΔ(mrr-hsdRMS-mcrBC) φ 80lacZ Δ M15ΔlacX74 recA1 rpsL (Str^R) endA1 Δdcm uidA(DMlu1)::pir-116ΔsbcC-sbcD

● 产品说明

GT115 菌株, 是专门用来克隆含有发夹结构 (Hairpin) 或重复序列等 DNA 二级结构的基因序列的大肠杆菌菌株。大肠杆菌中存在一种 SbcCD 蛋白复合体, 可以识别 DNA 发夹结构, 并将其切除; 将 *sbcC* 和 *sbcD* 两个基因突变, 增强了发夹结构 DNA 的稳定性。同时在大肠杆菌基因组中引入 *uidA(DMlu1)::pir-116*, 使 GT115 可以表达 Ⅱ 蛋白, 含有 *R6Kg ori* 复制子的质粒 (pCpG-mcs, pCpG-LacZ, pCpG-siRNA ...) 可以正常复制。该菌株还含有具有核酸酶 (*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 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 > 2 × 10⁸ cfu/μg DNA。

● 操作方法

1. GT115 感受态细胞从 -80°C 拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打 EP 管底混匀 (避免用枪吸打), 冰中静置 25 分钟。
2. 42°C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰中并静置 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. 或 LB 培养基 (S.O.C. 营养丰富, 可提高转化效率)。
4. 37°C, 225 rpm 复苏 60 分钟。
5. 5000 rpm 离心 1 分钟收菌, 留取 100 μl 左右上清吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 S.O.C. 或 LB 培养基上。
6. 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。

● 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。混入目的 DNA 时应轻柔操作。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。
2. 此菌株具有链霉素抗性, 拥有这种抗性的质粒无法使用。
3. 若要获得大量, 高纯度质粒, 建议在 TB 培养基 (唯地 CAT#: CM1018L) 中摇菌培养 (以标准质粒 PUC19 为例: 在 TB 营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为 LB 的 3-4 倍, SOC 的 2 倍)