



S17-1 感受态细胞

产品信息:

组成	BC129-01
S17-1 Competent cells	20×100μl
pUC19 质粒	5 μl

储存条件: -70°C保存，避免反复冻融。

产品介绍:

S17-1 菌株的染色体中整合了 RP4-2 质粒,该质粒可以携带染色体的部分 DNA 在接合菌株之间转移。S17-1 菌株为重组酶缺陷型 (recA1) 并缺失核酸内切酶 (endA1), 使其可以减少插入片段的同源重组概率, 保证 DNA 片段的稳定性, 并提高质粒 DNA 的质量和产量。Tn7 赋予该菌株弱的链霉素抗性。pUC19 质粒检测转化效率 $> \times 10^8$ cfu/μg DNA。

基因型:

RP4-2(Km::Tn7,Tc::Mu-1),pro-82,LAMpir,recA1,endA1,thiE1,hsdR17,creC510

菌株抗性: 对氨苄青霉素、卡那霉素、壮观霉素敏感。

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 5-10μl 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°C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 500μl 无菌的 LB 培养基;
6. 置于 37°C摇床中, 150-200rpm 震荡复苏培养 60 分钟;
7. 取 50-100 μl 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°C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 100μl 左右的液体, 用 200μl 吸头轻轻吹打散菌块, 取 10μl 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。)

20231103