

FDM感受态细胞

目录号: CB107

储存条件: -70°C冻存

产品内容:

组成	CB107-01	CB107-02	CB107-03
感受态细胞	10 × 50 μl	20 × 50 μl	5 × 50 μl

Order: 010-59822688

Toll-free: 800-990-6057/400-810-6057

TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD.

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品简介

本公司生产的FDM感受态细胞是采用大肠杆菌FDM菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于DNA的化学转化。FDM菌株能够在体内降解甲基化质粒模板, 因此本产品的主要应用领域是通过全质粒扩增方式进行的定点突变实验中质粒扩增产物和质粒模板的筛选。本产品可在-70°C条件下保存六个月而转化效率不发生改变。

每支感受态可以酌情分装使用, 降低了实验的成本。**质量稳定, 使用方便, 质优价廉。**

FDM菌株介绍

基因型: F- ϕ 80 *lacZ* Δ M15 Δ (*lacZYA-argF*)U169 *recA1 endA1 hsdR17*(rK⁻, mK⁺) *phoA supE44 thi-1 gyrA96 relA1 tonA*。

特点: FDM菌株具有体内降解甲基化质粒模板的功能; 同时具有T1, T5噬菌体抗性; 菌株转化效率高, 适用于高效的DNA克隆, 质粒扩增和定点突变实验。

操作方法

(以下操作均按无菌条件的标准进行)

- 取感受态细胞置于冰浴中, 如需分装可将刚融化细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中, 置于冰浴中。**注意: 一次转化中, 感受态细胞的建议用量为50 μl左右, 但可以根据实际情况对本产品分装使用。应注意的是所用DNA体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一。以下实验以50 μl感受态细胞为例。**
- 向感受态细胞悬液中加入目的DNA(50 μl的感受态细胞能够被0.5 ng超螺旋质粒DNA所饱和), 轻轻旋转离心管以混匀内容物, 在冰浴中静置30 min。
- 将离心管置于42°C水浴中放置60~90 sec, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却2~3 min, 该过程不要摇动离心管。**注意: 此步骤也可将离心管置于室温进行, 时间不需十分准确, 夏季或室温较高时, 可放置5-8 min左右, 如果室温较低, 可延长时间至8-15 min左右。条件允许建议使用42°C热激方法。**
- 向每个离心管中加入950 μl 无菌的SOC或LB培养基(不含抗生素), 混匀后置于37°C摇床振荡培养45 min(150 rpm/min), 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。

5 将离心管内容物混匀, 吸取100 μl已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的SOB或LB固体琼脂培养基上, 用无菌的弯头玻棒轻轻的将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37°C培养12-16 h。

- 涂布用量可根据具体实验来调整。如转化的DNA总量较多, 可取更少量转化产物涂布平板; 反之, 如转化的DNA总量较少, 可取200-300 μl转化产物涂布平板。如果预计的克隆较少, 可通过离心(4,000 rpm, 2 min)后吸除部分培养液, 悬浮菌体后将其涂布于一个平板中。(涂布剩余的菌液可置于4°C保存, 如果次日的转化菌落数过少可以将剩下的菌液再涂布新的培养板)。

注意事项:

- 感受态细胞应保存在-70°C, 不可多次冻融和放置时间过长, 以避免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
- 为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接反应液, 以重新转化, 将损失降到最低。