Order: 010-62617225
Technical: 010-62979301
Email: zomanbio@126.com

ZOMANBIO

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。

版本号:2025-11-28

GT115 电转感受态细胞
GT115 Electroporation Competent Cell
Cat.NO. ZC1033D

目录编号	产品名称	包装单位
□ ZC1033D-1	GT115 电转感受态细胞	50μl×5
□ ZC1033D-2	GT115 电转感受态细胞	50μl×20

备注：以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl)5μl（质量控制用）。

储存：-70℃ 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 GT115 电转感受态细胞是经特殊工艺处理得到的感受态细胞，可用于 DNA 的电转转化。使用 pUC19 质粒 DNA 检测，转化效率高达 10^{10}cfu/μg DNA 以上。

基因型为：F⁻ mcrAΔ(mrr-hsdRMS-mcrBC) f80lacZDM15ΔlacX74 recA1 rpsL (Str^R) endA1 ΔdcmuidA(DMluI)::pir-116ΔsbcC-sbcD

产品特点:

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(DMluI)::pir-116，使GT115可以表达 兀 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。此菌株具有链霉素抗性。

操作方法：

以下操作均按无菌条件的标准进行:

1. 0.1cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5min，待其沥干水分，正置 5min，使乙醇充分挥发，待乙醇挥发干净立即插入冰中，压实冰面，电极杯顶离冰面 0.5cm 以方便盖上杯盖，冰中静置 5min 充分降温。

2. 取 -70℃保存的电击感受态细胞插入冰中 5min，待其融化，加入目的 DNA（质粒或连接产物 ）并用手拨打离心管底轻轻混匀，避免产生气泡，立即插入冰中。

A. 测定转化效率使用 1μl 0.1ng/μl 的对照质粒 pUC19；

B. 对于连接产物，请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液 (10mM Tris-HCl，pH7.5；1mM EDTA) 重悬，DNA 浓度不超过 100ng/μl，体积不超过 5μl/50μl 感受态。

3. 用 200μl 枪头将感受态 -DNA 混合物快速移到电击杯中，避免产生气泡，盖上杯盖。

4. 启动电转仪，设置参数：C=25μF，PC=200Ω，V=1.8kV(BioRad 电转仪推荐参数)；或 C=25μF，PC=200Ω，V=1.8kV（BTX ECM 630 或 Bio-Rad GenePulser 电转仪推荐参数)；也可按所用电转仪推荐的参数操作。将电击杯快速放入电转槽中，电击完成快速插入冰中。

5. 加入 700μl 不含抗生素的无菌 SOC 或 LB 培养基, 用 1ml 枪吹吸电击杯底部数次混匀后, 转移到 50ml 离心管(BD Falcon 50ml 锥形离心管等), 向离心管中补加 SOC 或 LB 培养基至 5ml。37℃, 225rpm 复苏 60min。

6. 5000rpm 离心 1min 收菌, 重悬后取 100-200μl 涂布到含相应抗生素的 SOC 或 LB 平板上(因菌量较大, 若全部涂板请选用直径 15cm 培养皿 2-5 个)。将平板倒置放于 37℃培养箱过夜培养 13-17h。

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. DNA 加入到细胞中后, 立即进行电击操作;电击完成后立刻加上 LB 或 SOC 等复苏培养基, 每分钟延迟加入会导致 3 倍转化效率的降低。
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. 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。
6. 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。质粒增大一倍, 转化效率下降一个数量级。
7. 对于连接产物转化, 最好转化前乙醇沉淀 DNA 后用适量 TE 缓冲液 (10mM Tris HCl, pH7.5; 1mM EDTA) 重悬产物, 保证 DNA 浓度不超过 100ng/μl。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。
8. 混入质粒时应轻柔操作, 吸取感受态细胞时不可用孔径过小的枪头 (普通 200μl 枪头应剪去枪头尖 0.6cm) 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。
9. 电击感受态细胞最好保存在 -70℃以下, 高于 -70℃超期储存会导致转化效率下降。

ZOMANBIO