

Mach1-T1 感受态细胞

产品货号	产品规格	储存条件
JGST0050	20×100 μl	-80℃保存，避免反复冻融。

产品简介

本公司生产的 Mach1-T1 感受态细胞是采用大肠杆菌 Mach1-T1 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。使用 pUC19 质粒检测，转化效率可达 10^9 cfu/μg，-80℃保存几个月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。

基因型

F-φ80(lacZ)ΔM15ΔlacX74hsdR(rk-mk+)ΔrecA1398endA1tonA

产品特点

1. Mach1-T1感受态细胞是目前生长速度最快的感受态细胞，在氨苄青霉素平板上，8-9小时可见克隆；
2. 用于蓝、白斑筛选，12小时可见蓝斑；
3. 将过夜培养的单克隆在2ml的LB培养基中培养4-5小时即可进行小量质粒提取；
4. 适用于高效的DNA克隆和质粒扩增，减少克隆DNA同源重组的发生，提高质粒DNA的产量和质量；
5. 具有T1，T5噬菌体抗性。

操作流程（以下操作均在无菌条件的标准进行）

1. 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。（一次转化感受态细胞的建议用量为50-100μl，可以根据实际情况分装使用。应注意所用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100μl感受态细胞为例。
2. 向感受态细胞悬液中加入目的DNA，轻轻旋转离心管以混匀内容物，在冰浴中静置30分钟。
3. 将离心管置于42℃水浴中放置60秒钟，然后快速将管转移到冰浴中，使细胞冷却2分钟，该过程不要摇动离心管。（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 分钟左右；如果室温较低，可延长时间至 8-15 分钟左右。**条件允许建议使用 42°C 热激方法。**）

4. 向每个离心管中加入 500 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基（不含抗生素），混匀后置于 37°C，150rpm 摇床振荡培养 60 分钟，目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达，使菌体复苏。
5. 无菌条件下，取适量菌液加到含相应抗生素的 LB 固体培养基平板上，用无菌的细菌涂布器或玻璃珠将细胞均匀涂开。等平板中的液体完全吸收后，倒置平板，37°C 培养 12-16 小时。（涂布用量可根据具体实验来调整。转化质粒在 10ng 左右，90mm 平皿涂布 100 μ l，55mm 平皿涂布 50 μ l；连接产物的转化菌液建议离心后倒掉大部分上清，余 200 μ l，取 100 μ l 用于涂布。）
6. 保留剩余的菌液 4°C 冰箱中，视平板上菌落生长情况决定去留。（**质粒快速转化步骤：**将步骤 2 的时间缩短到 5 分钟，对于氨苄青霉素抗性的质粒，步骤 3 完成后，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 分钟的复苏培养。）

注意事项

1. 感受态细胞一定要用干冰运输。收到后应-80°C 下保存，不可反复冻融和放置时间过长，以免降低感受态细胞的转化效率。
2. 进行转化操作时，应根据相应温度及无菌条件的要求进行。混入质粒或连接产物时应轻柔操作。
3. 涂布用量可根据具体实验调整。若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。若预计克隆数较少，可通过离心（4000rpm，2 分钟）吸除部分培养液，悬浮菌体后将其涂布平板中。
4. 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，可将剩下的菌液再涂布新的固体培养基进行培养。