

产品简介

ATG-T1 菌株由野生型 non-K-12 *E. Coli*W 菌株改造而来，是目前生长速度较快的感受态细胞之一。转化筛选平板后 9 h 可见克隆生成，缺失核酸内切酶 (*endA*)，提高了质粒 DNA 的产量和质量；重组酶缺陷型 (*recA1398*) 减少插入片段的同源重组概率，保证了插入 DNA 的稳定性；*lacZ* Δ M15 的存在使 ATG-T1 可用于蓝、白斑筛选；*tonA* 突变赋予 ATG-T1 菌株对噬菌体 T1 和 T5 的抗性。ATG-T1 感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒 (2686bp, AmpR) 检测转化效率 $>10^9$ cfu/ μ g DNA。

产品组成

组分	CC501 (10 支)	CC501 (20 支)
ATG-T1 Chemically Competent cell	10 \times 100 μ l	20 \times 100 μ l

质量控制

- ❖ 无外源质粒 DNA 残留；
- ❖ 无抗性基因；
- ❖ 转化效率超过 10^9 cfu/ μ g pUC19 DNA。

储存条件

本产品应置于 -80°C 储存，干冰运输，勿置于 -20°C 或液氮中保存。

实验方案

1. ATG-T1 感受态细胞从 -80°C 拿出，迅速插入冰中，5 min 后待菌块融化，加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀 (避免用枪吸打)，冰中静置 25 min；
2. 42°C 水浴热激 45 sec，迅速放回冰上并静置 2 min，晃动会降低转化效率；
3. 向离心管中加入 800 μ l 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB)，混匀后 37°C，200 rpm 复苏 60 min；
4. 5000 rpm 离心 1 min 收菌，留取 100 μ l 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上；
5. 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。

注意事项

- ❖ 感受态细胞最好在冰中缓慢融化，插入冰中 8 min 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。混入质粒或连接产物时应轻柔操作。
- ❖ 混入质粒或连接产物时应轻柔操作。
- ❖ 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。

附录

常用抗生素浓度

抗生素类型	工作浓度
Ampicillin	100 µg/ml
Carbenicillin	100 µg/ml
Chloramphenicol	33 µg/ml
Kanamycin	30 µg/ml
Streptomycin	25 µg/ml
Tetracycline	15 µg/ml

DNA 中的转化抑制物及去除方式

转化抑制物类型	去除方式
Detergents	乙醇沉淀
Phenol	氯仿抽提及乙醇沉淀
Ethanol or Isopropanol	DNA 溶解前彻底晾干
PEG	柱式纯化或酚氯仿抽提及乙醇沉淀
DNA binding proteins	柱式纯化或酚氯仿抽提及乙醇沉淀