

### GM2163 Chemically Competent Cell 产品说明书

#### ● 产品规格 (CAT#: DL2080)

GM2163 Competent Cell	100µl /支
pUC19 (control vector, 10pg/µl)	10µl
保存条件:	-80°C

#### ● 基因型

*F-ara-14 leuB6 fhuA31 lacY1 tsx78 glnV44 galK2 galT22 mcrA dcm-6 hisG4 rfbD1 rpsL136*  
*dam13::Tn9 xylA5 mtl-1 thi-1 mcrB1 hsdR2*

#### ● 产品说明

GM2163 菌株具有氯霉素抗性和硫酸链霉素抗性，是甲基转移酶 *dam*、*dcm* 缺失的 K12 菌株，提取得到的质粒 DNA 可被对 *dam*、*dcm* 甲基化敏感的内切酶切割；甲基转移酶 *dam*、*dcm* 突变导致细胞内基因突变率增加，菌落生长时会产生大小两种菌落，挑菌时尽量挑中等大小或偏小的菌落。GM2163 无 *lacIqlacZ* ΔM15，不可进行蓝白斑筛选，不含核酸酶 *endA1* 突变，体内核酸酶含量较高，提取质粒时务必使用质粒提取试剂盒中去蛋白液尽量去除核酸酶对质粒的污染。GM2163 感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率 > 3 × 10<sup>8</sup> cfu/µg DNA。

#### ● 操作方法

1. GM2163 感受态细胞从 -80°C 拿出，迅速插入冰中，5 分钟后待菌块融化，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 分钟。
2. 42°C 水浴热激 45 秒，迅速放回冰上并静置 2 分钟，晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 µl 不含抗生素的无菌培养基（2YT 或 LB），混匀后 37°C，200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体，留取 100 µl 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

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化。插入冰中 8 分钟内加入目标 DNA，不可在冰中放置时间过长，长时间存放会降低转化效率。混入目的 DNA 时应轻柔操作，转化高浓度质粒或连接产物可相应减少用于涂板的菌量。
2. GM2163 感受态转化效率较高，对 DNA 甲基化有特殊要求的试验可用 GM2163 代替 JM110 使用。
3. 若要获得大量，高纯度质粒，建议在 TB 培养基（唯地 CAT#: CM1018L）中摇菌培养（以标准质粒 PUC19 为例：在 TB 营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为 LB 的 3-4 倍，SOC 的 2 倍）