

# DB3.1 Chemically Competent Cell

|           |          |
|-----------|----------|
| #CS04010  | 10×100ul |
| # CS04020 | 20×100ul |

贮存 -80°C

**概述:** DB3.1 属于大肠杆菌克隆型菌种, DB3.1 大肠杆菌菌株基因组中含有 *gyrA462* 基因, 赋予其对λ嗜菌体的 *ccdB* 毒性基因的抗性, 特别适用于构建或扩繁含有 *ccdB* 基因的质粒载体 (例如 GATEWAY System Vector), 此菌株具有链霉素抗性。经 pUC19 检测转化效率达  $10^7$  cfu/μg DNA。

## 基因型:

Tet R Δ(*mcrA*)183 Δ(*mcrCB*-*hsdSMR*-*mrr*)173 *endA1 supE44 thi-1 recA1 gyrA96 relA1 lac Hte* [F' *proAB lacI q* ZΔM15 Tn10 (Tet R) Amy CamR]

## 操作方法

- DB3.1 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) 并用枪轻轻吹打混匀, 冰中静置 25 分钟。
- 42°C 水浴热激 90 秒, 迅速放回冰上并静置 5 分钟。
- 向离心管中加入 500μL 不含抗生素的无菌培养基 (SOC 或 LB 培养基), 混匀后 37°C, 200rpm 复苏 60 分钟。
- 3000rpm 瞬时离心收菌, 留取 100μL 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含所选质粒筛选抗生素的 LB 培养基上。
- 待正置培养 30min 后, 再将平板倒置放于 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, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。
- 混入质粒时应轻柔操作。
- 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。