

# DB3.1 Chemically Competent Cell

贮存 -80°C 6个月

**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<sup>6</sup> 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。