



ZOMANBIO

本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

Stable 感受态细胞 Stable Chemically Competent Cell

版本号: 2018-08-27

Cat.NO. ZC1025

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1025-1	Stable 感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC1025-2	Stable 感受态细胞	20×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl)10μl (质量控制用)。

储存: -70°C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 Stable 化学感受态细胞是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 DNA 检测, 转化效率达 5×10^8 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: F' proA+B+ lacI^q Δ (lacZ)M15 zzf::Tn10 (Tet^R) Δ (ara-leu) 7697 araD139 fhuA Δ lacX74 galK16 galE15 e14- Φ80dlacZ Δ M15 recA1 relA1 endA1 nupG rpsL (Str^R) rph spoT1 Δ (mrr-hsdRMS -mcrBC)

产品特点:

Stable 菌株是 NEB 公司开发的高转化效率菌株, 是逆转录病毒 / 慢病毒载体系统推荐使用的菌株, 特别适合慢病毒或具有末端重复序列 DNA 片段的克隆。基因组含有重组酶 recA1 rel A1 突变, 可有效抑制长片段末端重复区的重组, 降低错误重组的概率; 同时含有核酸酶 endA1 突变, 避免了提取质粒过程中核酸酶的污染, 大大提高了高纯度病毒质粒的产量和质量。lacZΔM15 的存在使 Stable 可用于蓝、白斑筛选, 此菌株具有四环素和链霉素抗性。

操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:**取感受态细胞置于冰浴中(解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置 30 分钟。
注意:所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:**将离心管置于 42°C 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- **复苏:**向每个离心管中加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37°C 180rpm 摇床振荡培养 45-60 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。
- **涂板:**根据实验要求 (质粒, 重组连接产物转化), 吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37°C 培养 12-16 小时。
- 当质粒中含有不稳定片段时, 30°C 培养可降低错误重组的概率, 若转化 control pUC19 计算转化效率则需 37°C, 180 rpm 复苏 60 分钟。



提示：

- 刚刚化冻的细胞，转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下，半小时内活性无明显变化，因此，同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70℃，请避免反复冻融，以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时，请在无菌条件下，根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸，整个过程要轻柔，尽量低温操作。
- 为防止转化实验不成功，可以保留部分连接反应液，以重新转化，将损失降到最低。
- 对不稳定 DNA 片段的克隆或逆转录病毒 / 慢病毒载体的构建，涂板后平板应在 30℃ 培养，以减少发生错误重组的概率
- 制备高纯度病毒质粒时，应使用新鲜转化的平板接菌，新鲜菌液提取质粒，菌液不可低温保存后使用。
- 对不稳定的克隆或病毒质粒优先以质粒状态保存，尽量避免将质粒保存在大肠杆菌细胞中。
- 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。

ZOMANBIO