

ClearColi K12 电转感受态细胞

ClearColi K12 Electroporation Competent Cell

Cat.NO. ZC1042D

目录编号	产品名称	包装单位
■ ZC1042D-1	ClearColi K12 电转感受态细胞	50μl×5
□ ZC1042D-2	ClearColi K12 电转感受态细胞	50μl×20

备注：以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl)5μl（质量控制用）。

储存：-70℃ 保存六个月。

产品介绍：

ClearColi K12 电击感受态细胞只能用于电击转化，不能用于热激转化。ClearColi K12 菌株来源于 K12 endA⁻ recA⁻ 菌株。在 K12 endA⁻ recA⁻ 菌株中引入突变，导致 ClearColi K12 细胞壁外层的脂多糖 (LPS) 被修饰：LPS 的低聚糖链被删除，同时 LPS 的两个酰基链也被删除，进而破坏了 ClearColi K12 大肠杆菌的内毒素信号通路，使得从该细胞中提取的蛋白或质粒 DNA 中的内毒素含量极低，提取的无内毒素质粒广泛应用于后续的哺乳动物细胞转化。ClearColi K12 同时缺失核酸内切酶 (endA) 和重组酶 (recA)，提高了质粒 DNA 的产量和质量。ClearColi K12 电击感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率可达 1×10^7 cfu/μg DNA。

基因型为：F^λ Δ endA⁻ Δ recA⁻frr181 msbA52 Δ gutQ Δ kdsD Δ lpxL Δ lpxM Δ pagP Δ lpxP Δ eptA

操作方法：

以下操作均按无菌条件的标准进行：

1. 0.1cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5min，待其沥干水分，正置 5min，使乙醇充分挥发，待乙醇挥发干净立即插入冰中，压实冰面，电极杯顶离冰面 0.5cm 以方便盖上杯盖，冰中静置 5min 充分降温。

2. 取 -70℃ 保存的电击感受态细胞插入冰中 5min，待其融化，加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打离心管底轻轻混匀，避免产生气泡，立即插入冰中。

A. 测定转化效率使用 1μl 0.1ng/μl 的对照质粒 pUC19；

B. 对于连接产物，请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液 (10mM Tris-HCl, pH7.5; 1mM EDTA) 重悬，DNA 浓度不超过 100ng/μl，体积不超过 5μl/50μl 感受态。

3. 用 200μl 枪头将感受态 -DNA 混合物快速移到电击杯中，避免产生气泡，盖上杯盖。

4. 启动电转仪，设置参数：C=25μF, PC=200Ω, V=1.8kV (BioRad 电转仪推荐参数)；或 C=25μF, PC=200Ω, V=2.4kV (BTX ECM 630 或 Bio-Rad GenePulser 电转仪推荐参数)；也可按所用电转仪推荐的参数操作。将电击杯快速放入电转槽中，电击完成快速插入冰中。

5. 加入 700μl 不含抗生素的无菌 SOC 或 LB 培养基，用 1ml 枪吹吸电击杯底部数次混匀后，转移到 50ml 离心管 (BD Falcon 50ml 锥形离心管等)，向离心管中补加 SOC 或 LB 培养基至 5ml。37℃, 225rpm 复苏 60min。