



SS320 电转感受态细胞

SS320 Electroporation Competent Cell

Cat.NO. ZC1064D

目录编号	产品名称	包装单位
■ ZC1064D-1	SS320 电转感受态细胞	50μl×5
□ ZC1064D-2	SS320 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°C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 SS320 感受态细胞是采用特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于 DNA 的电转化。使用 pUC19 质粒检测, 转化效率 10^9 cfu/μg DNA 以上。

基 因 型: [F'proAB+lacIqlacZΔM15 Tn10 (tet^r)] hsdR mcrB araD139Δ(araABC-leu)7679ΔlacX74 galUgalK rpsL thi

产品特点:

SS320 来源于 MC1061F⁻ 菌株, 将 F' 因子转入 MC1061F⁻ 既是 SS320 (也叫 MC1061F'), 是主要的噬菌体展示用菌株, 同时也可用于质粒构建, 蛋白表达等实验, lacIqZΔM15 的存在使其可以用于蓝白斑筛选等实验; 但不含核酸酶 endA1 突变, 体内核酸酶含量较高, 提取质粒时推荐使用质粒提取试剂盒中去蛋白液以去除菌体内核酸酶。SS320 菌株具有四环素抗性。

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°C 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=1.8kV (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°C, 225rpm 复苏 60min。

6. 5000rpm 离心 1min 收菌, 重悬后取 100-200μl 涂布到含相应抗生素的 SOC 或 LB 平板上 (因菌量较大, 若全部涂板请选用直径 15cm 培养皿 2-5 个)。将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养 13-17h。



ZOMANBIO

Order: 010-62617225
Technical: 010-62979301
Email: zomanbio@126.com

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。

注意事项：

1. 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 电击感受态细胞加入电击杯应避免产生气泡, 气泡会增加弧光放电风险。
3. DNA 加入到细胞中后, 立即进行电击操作; 电击完成后立刻加上 LB 或 SOC 等复苏培养基, 每分钟延迟加入会导致 3 倍转化效率的降低。
4. 电击杯里的离子可增加溶液的电导增大在含有细胞和 DNA 的溶液中产生电流和弧光放电的风险。
5. 当 DNA 不纯或存在盐, 乙醇, 蛋白及缓冲液等污染时, 转化效率急剧下降。
6. 若转化大质粒或想获得较高转化效率, 推荐使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒。质粒增大一倍, 转化效率下降一个数量级。
7. 对于连接产物转化, 最好转化前乙醇沉淀 DNA 后用适量 TE 缓冲液 (10mM Tris HCl, pH7.5; 1mM EDTA) 重悬产物, 保证 DNA 浓度不超过 100ng/μl。过高浓度连接产物或过大体积连接产物会降低转化效率, 增加弧光放电的风险。
8. 混入质粒时应轻柔操作, 吸取感受态细胞时不可用孔径过小的枪头 (普通 200μl 枪头应剪去枪头尖 0.6cm) 避免用力过猛, 以免剪切力过大损伤细胞膜, 降低转化效率。转化高浓度的质粒或连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
9. 电击感受态细胞最好保存在 -70℃ 以下, 高于 -70℃ 超期储存会导致转化效率下降。

ZOMANBIO