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

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。

版本号:2025-11-28

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：$F^-\lambda^-$ 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=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℃, 225rpm 复苏 60min。

6. 5000rpm 离心一分钟收菌, 重悬后取 100-200μl 涂布到含相应抗生素的 LB(务必使用高盐培养基平板, 不可用 2YT, SOB, SOC 等低盐培养基)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℃培养箱中培养 36-48 小时(培养 24 小时后可看到很小的克隆)。

注意事项:

1. 因 ClearColi K12 细胞壁外层的脂多糖(LPS)被修饰, 细胞易死亡, 不易保存, 平板菌在 4℃存放时间应不超过 1 周。且适合在高盐培养基中生长。

2. ClearColi K12 电击感受态效率很低, 不适用于构建质粒使用, 一般用来扩繁质粒, 提取高质量的无内毒素的质粒;若构建质粒, 请选用 DH5a、TOP10 等转化效率较高的感受态细胞。

3. ClearColi K12 菌株生长缓慢, 平板在 37℃培养时间在 36-48 小时之间。

4. 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 1/10。

5. 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。

6. 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。

7. 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。

8. 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。

9. 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 (10 mM Tris HCl, pH7.5; 1 mM 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。

10. ClearColi K12 菌株的细胞壁被修饰过, 细胞比较脆弱, 混入质粒时应轻柔操作, 吸取感受态细胞时避免用力过猛, 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用于涂板的菌量。

11. 电击感受态细胞最好保存在 -80℃以下, 高于 -80℃超期储存会导致转化效率会下降。

ZOMANBIO