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

Nissle1917 电转感受态细胞

Nissle1917 Electroporation Competent Cell

Cat.NO. ZC1260D

目录编号	产品名称	包装单位
■ ZC1260D-1	Nissle1917 电转感受态细胞	50μl×5

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：

大肠埃希菌 Nissle1917，简称 EcN，是唯一一种不致病的大肠杆菌，是一种益生菌。EcN 在临床上主要用于治疗炎症性胃肠功能障碍，比如克罗恩病、溃疡性结肠炎等。EcN 的作用机制在于其能在人体肠道定殖，并阻止病原菌对肠道黏膜的侵袭，对肠道黏膜屏障具有保护和修护作用。EcN 还参与宿主机体的免疫调控，平衡免疫因子的分泌，增强宿主免疫能力，进而缓解和治疗炎症。最进研究发现，EcN 具有肿瘤靶向作用，与化疗药物联用可增强药物抗肿瘤的疗效。Nissle1917 电转感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率可达 1×10^8cfu/μg DNA。

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 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℃培养箱过夜培养 13-17h。

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