



Stable Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC115)

Stable :	100μl/支
pUC19 (control vector, 0.1ng/μl):	5μl
保存条件(保质期) :	-80°C (6个月)

产品介绍

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 relA1* 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, Stable 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 检测转化效率 $>5 \times 10^8$ cfu/μg DNA。

基因型: F' *proA+B+ lacI^l Δ(lacZ)M15 zcf::Tn10(Tet^R) Δ(ara-leu) 7697 araD139 fhuA Δ lacX74 galK16 galE15 e14- Φ80dlacZΔM15 recA1 relA1 endA1 nupG rpsL (Str^R) rph spoT1 Δ (mrr-hsdRMS -mcrBC)*

操作方法

1. 取感受态细胞置于冰浴中 (解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA (质粒或连接产物), 轻轻混匀, 在冰浴中放置 25 分钟。

注意: 所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞体积的 1/10。

2. 将离心管置于 42°C 水浴中放置 60 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2 分钟, 该过程不要摇动离心管。

3. 向每个离心管中加入 700μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素) 混匀后置于 30°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。

注: 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, 180rpm 复苏 60 分钟

4. 根据实验要求, 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, 将平板倒置放于 30°C 培养 20-24 小时或 37°C 过夜培养。

注: 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 培养过夜



注意事项

1. 感受态细胞需要在冰中缓慢融化，插入冰中 10 分钟内加入目标 DNA，不可在冰中放置时间过长，长时间存放会降低转化效率。
2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作，避免用移液枪吹吸。
3. 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。
4. 感受态细胞应保存在 -70°C ，请避免反复冻融，以免降低感受态细胞的转化效率。
5. 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，将损失降低。