



## Stbl2 Chemically Competent Cell 产品说明书

### 产品规格 (CAT#: YC116)

Stbl2 :	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

Stbl2 菌株来源于 JM109 *E. coli* strain, 适合克隆不稳定插入片段 (正向重复序列, 逆转录病毒序列等); *mcrA* 突变和 *mcrBC-hsdRMS-mrr* deletion 使该菌株更适于克隆甲基化的基因组序列; 同时 Stbl2 也可用于慢病毒载体的构建。 *recA1* 和 *endA1* 的突变有利于克隆 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。不存在 *lac<sup>F</sup>ΔM15*, 不可用于蓝、白斑筛选。 Stbl2 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 检测转化效率可达  $1 \times 10^8$  cfu/μg DNA。

**基因型:** F- *mcrA*Δ(*mcrBC-hsdRMS-mrr*)*recA1 endA1 lon gyrA96 thi supE44 relA1*λ<sup>-</sup>Δ(*lac-proAB*)

### 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 37°C 180rpm 振荡培养 45-60 分钟或 30°C, 180rpm 复苏 90 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, 180 rpm 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, 倒置平板, 37°C 培养 12-16 小时或 30°C 培养箱过夜培养。

**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**

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, 将损失降低到最低。