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。

Stbl3 Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格（CAT#: YC117）

Stbl3：	100μl/支
pUC19 (control vector，0.1ng/μl):	5μl
保存条件(保质期)：	-80℃（6 个月）

产品介绍

Stbl3 菌株来源于 HB101 *E. coli* strain，是慢病毒载体系统推荐使用的菌株。基因组含有重组酶 *recA13* 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；但不含核酸酶 *endA1* 突变，体内核酸酶含量较高，提取质粒时务必使用质粒提取试剂盒中去蛋白液。此菌株具有链霉素抗性，不存在 *lacI*^{q}*ZΔM15*，不可用于蓝、白斑筛选。Stbl3 感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 检测转化效率>10^{8}cfu/μg DNA

基因型：F- *mcr*B *mrr hsd*S20(r_B^-, m_B^-) *rec*A13 *sup*E44 *ara*-14 *gal*K2 *lac*Y1 *pro*A2 *rps*L20 (Str^R) *xyl*-5 λ$^-$ *leu mtl*-1 *end*A1+

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℃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℃180rpm 摇床振荡培养 45-60 分钟或 30℃，180 rpm 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℃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℃，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℃培养或 30℃培养箱过夜培养。

注：当质粒中含有不稳定片段时，30℃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℃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-80℃，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，将损失降到低。

6. 对不稳定 DNA 片段的克隆或逆转录病毒/慢病毒载体的构建，涂板后平板应在 30℃培养，以减少发生错误重组的概率。

7. 制备高纯度病毒质粒时，应使用新鲜转化的平板接菌，新鲜菌液提取质粒，菌液不可低温保存后使用。

8. 对不稳定的克隆或病毒质粒优先以质粒状态保存，尽量避免将质粒保存在大肠杆菌细胞中。

9. S.O.C.或 LB 培养基均可使用，S.O.C.可提高转化效率 20%；实验人员可选择在 37℃或 30℃培养细胞，37℃条件下，菌生长速度加快，有利于提高质粒产量，30℃培养可降低错误重组概率。