



SURE Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC120)

SURE :	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

真核生物 DNA 存在较多“十字型”、“Z 字型”等二级或三级结构, 这种 DNA 结构在利用传统大肠杆菌进行克隆时易被大肠杆菌体内的重组酶系统或其他防御系统识别并对其进行重组, 删除等破坏, 导致很难对这类 DNA 进行正确的克隆操作。SURE 菌株可以解决这些问题: 此菌株体内重组酶系统整条通路被破坏, 并且(McrA-, McrCB-, McrF-, Mrr-, HsdR-)这些限制性突变的存在赋予此菌株无法对外源 DNA 进行标记、限制, 提高了外源甲基化 DNA 的克隆效率, 同时具有核酸酶 (*endA*)突变、重组酶 (*recB recJ*)突变, 增强了外源 DNA 的稳定性。存在于 F' 因子上的 *lacIqΔM15* 基因使此菌株可以进行蓝白斑筛选; Kan^r, Tet^r 赋予菌株卡那霉素和四环素抗性。SURE 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率达 5×10^8 cfu/μg DNA。

基因型: *E. coli* B e14⁻(*mcrA*⁻) Δ (*mcrCB*-*hsdSMR*-*mrr*)171 *endA1 gyrA96 thi-1 supE44 relA1 lac recB recJ sbcC umuC::Tn5* (Kan^r) *uvrC* [F' *proAB lacI^qΔM15 Tn10* (Tet^R)]

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 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。

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。

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，将损失降低到最低。

6. 此菌株具有卡那霉素，四环素抗性，拥有这两种抗性的质粒无法使用；对 $<40\ \mu\text{g/ml}$ 氯霉素有抗性，但对 $100\ \mu\text{g/ml}$ 氯霉素敏感。使用其他抗生素参考浓度：氨苄青霉素 (终浓度: $100\ \mu\text{g/ml}$) ，氯霉素 (终浓度: $100\ \mu\text{g/ml}$)。