



## NS3529 Electroporation-Competent Cell 产品说明书

### 产品规格 (CAT#: YC152D)

NS3529 Electroporation-Competent Cell	50 $\mu$ l/支
pUC19 (control vector, 10pg/ $\mu$ l):	10 $\mu$ l
保存条件(保质期):	-80 $^{\circ}$ C (6个月)

### 产品介绍

NS3529 可在细胞体内表达 cre 酶,用于受体质粒和供体质粒的体内重组反应。更详细的工作机制及技术参数建议查文献获取。本公司生产的 NS3529 电转感受态细胞是采用特殊工艺处理得到的感受态细胞,可用于 DNA 的电转化。使用 pUC19 质粒检测,转化效率  $10^{10}$ cfu/ $\mu$ g DNA 以上。

**基因型:** 建议查文献获取

### 操作方法

- 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 5 分钟,待其沥干水分,正置 5 分钟,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 0.5 cm 以方便盖上杯盖,冰中静置 5 分钟充分降温。
- 取 -80 $^{\circ}$ C 保存的 DH5 $\alpha$  电击感受态细胞插入冰中 5 分钟,待其融化,加入目的 DNA (质粒或连接产物)并用手拨打 EP 管底轻轻混匀,避免产生气泡,立即插入冰中。
  - 测定转化效率使用 1  $\mu$ l 10 pg/ $\mu$ l 的对照质粒 pUC19;
  - 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/ $\mu$ l, 体积不超过 5 $\mu$ l/50 $\mu$ l 感受态。
- 用 200  $\mu$ l 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。
- 启动电转仪,设置参数: C=25  $\mu$ F, PC=200  $\Omega$ , V=1.8 kV (此为 BioRad 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。
- 2 分钟后从冰中取出电击杯,放室温,加入 700  $\mu$ l 不含抗生素的无菌 S.O.C. 培养基(室温),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 S.O.C. 培养基至 5ml。37 $^{\circ}$ C, 225 rpm 复苏 60 分钟。
- 5000rpm 离心一分钟收菌,重悬后取 100-200  $\mu$ l 涂布到含相应抗生素的 S.O.C 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 $^{\circ}$ C 培养箱过夜培养 13-17 小时

## S.O.C 培养基配方

2% Tryptone

0.5% Yeast Extract

10 mM NaCl

2.5 mM KCl

10 mM MgCl<sub>2</sub>

10 mM MgSO<sub>4</sub>

20 mM glucose

PH-7.0

S.O.C. Medium is suitable for use in the final step of cell transformation to obtain maximal transformation efficiency of *E. coli* (Hanahan, 1983).

## 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. 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。
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. 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。
6. 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 (10 mM Tris HCl, pH7.5; 1 mM EDTA) 重悬产物，保证 DNA 浓度不超过 100 ng/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。
7. 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 200ul 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。
8. 电击感受态细胞最好保存在 -80°C 以下，高于 -80°C 超期储存会导致转化效率会下降。