

Stable 感受态细胞

Stable Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G27008

保存条件: -80℃

产品规格: 10×100μl 50×100μl

产品介绍

基 因 型

F' proA+B+ lacIq Δ(lacZ)M15 zff::Tn10 (TetR) Δ(ara-leu) 7697 araD139
fhuA ΔlacX74 galK16 galE15e14- Φ80dlacZΔM15 recA1 relA1 endA1
nupG rpsL (StrR) rph spoT1 Δ(mrr-hsdRMS -mcrBC)

简 要 说 明

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，具有与 **Stbl2**，**Stbl3**

完全不同的基因型，但是表现出比 **Stbl2**，**Stbl3** 更优异的性能，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 rel A1** 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。

acZ Δ M15 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/ μ g DNA。

操 作 说 明

1. **Stable** 感受态细胞从 -80°C 拿出，迅速插入冰中，6 分钟后待菌块融化，加入目的 DNA（质粒或连接产物）并用手拨打 EP 管底轻轻混匀（避免用枪吸打），冰中静置 25 分钟。

2. 42°C 水浴热激 45 秒，迅速放回冰上并静置 5 分钟，晃动会降低转化效率。

3. 向离心管中加入 0.9 mL 室温 S.O.C. 或 LB 培养基 (S.O.C. 营养丰富，可提高转化效率)。

4. 37°C ，225 rpm 复苏 60 分钟或 30°C ，225 rpm 复苏 90 分钟。（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 ，225 rpm 复苏 60 分钟）

5. 5000rpm 离心一分钟收菌，留取 100 μ l 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 S.O.C.或 LB 培养基上。

6. 将平板倒置放于 37℃或 30℃培养箱过夜培养。（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. 加对不稳定 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。
2. 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。
3. 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。
4. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化。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。混入目的 DNA 时应轻柔操作。
5. 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。