

Stbl2 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL1045)

Stbl2 Competent Cell	100 μ l /支
pUC19 (control vector, 10pg/ μ l)	10 μ l
保存条件 (保质期):	-80 $^{\circ}$ C (6个月)

● 基因型

F- *mcrA* Δ (*mcrBC-hsdRMS-mrr*) *recA1 endA1 lon gyrA96 thi supE44 relA1* λ : Δ (*lac-proAB*)

● 产品说明

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 *lacI*^qZ Δ M15, 不可用于蓝、白斑筛选。Stbl2 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 > 10⁹ cfu/ μ g DNA。

● 操作方法

1. Stbl2 感受态细胞从 -80 $^{\circ}$ C 拿出, 迅速插入冰中, 5 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 $^{\circ}$ C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰中并静置 2 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 $^{\circ}$ C, 225 rpm 复苏 60 分钟或 30 $^{\circ}$ C, 225 rpm 复苏 90 分钟。
当质粒中含有不稳定片段时, 30 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C, 225 rpm 复苏 60 分钟
5. 5000 rpm 离心 1 分钟收菌, 留取 100 μ l 左右上清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 $^{\circ}$ C 或 30 $^{\circ}$ C 培养箱过夜培养。
当质粒中含有不稳定片段时, 30 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 培养过夜

● 注意事项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化。插入冰中 8 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。转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可减少最终用于涂板的菌量。
2. 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 $^{\circ}$ C 或 30 $^{\circ}$ C 培养细胞, 37 $^{\circ}$ C 条件下, 菌生长速度加快, 有利于提高质粒产量, 30 $^{\circ}$ C 培养可降低错误重组概率。
3. 若要获得大量, 高纯度质粒, 建议在 TB 培养基 (唯地 CAT#: CM1018L) 中摇菌培养 (以标准质粒 PUC19 为例: 在 TB 营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为 LB 的 3-4 倍, SOC 的 2 倍)