

Stbl4 Chemically Competent Cell 产品说明书

- 产品规格 (CAT# : DL1047)

Stbl4 Competent Cell	100μl /支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件 (保质期):	-80°C (6个月)

- 基因型

F' proAB+ lacI_qΔM15 Tn10 (Tet^R)mcrA Δ(mcrBC-hsdRMS-mrr) recA1 endA1 gyrA96 gal- thi-1 supE44 λ-relA1Δ(lac-proAB)

- 产品说明

Stbl4 菌株来源于 Stbl2 *E. coli* strain, 可用于慢病毒载体或逆转录病毒载体的构建。Stbl4 菌株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。*recA* 1 和 *endA*1 的突变有利于克隆 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。*lacI^qΔM15* 标记使得 Stbl4 菌株可用于蓝、白斑筛选。此菌株具有四环素抗性。唯地生物生产的 Stbl4 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 >10⁸ cfu/μg DNA。

- 操作方法

1. Stbl4 感受态细胞从 -80°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 管底混匀, 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 2 分钟, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μl 不含抗生素的无菌培养基 (LB), 混匀后 37°C, 200 rpm 复苏 70 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
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体, 留取 100 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 LB 培养基上, 平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养 17-20 小时或 30°C 培养箱过夜培养 20-24 小时。若转化 control pUC19 计算转化效率, 则需 37°C 培养过夜。
5. 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)

●TB 培养基配方

- 1.2% Tryptone
- 2.4% Yeast Extract
- 4% 甘油
- 17mM KH₂PO₄
- 72mM K₂HPO₄

配制方法 (1L):

1, 配制磷酸缓冲液 (0.17M KH₂PO₄, 0.72M K₂HPO₄):

溶解 2.31g KH₂PO₄ 和 12.54g K₂HPO₄ 于 90ml 去离子水中, 定容到 100ml, 高压灭菌。

2, 在烧杯中加入以下试剂: Tryptone 12g, Yeast Extract 24g, 甘油 4ml; 加入去离子水 800ml, 充分溶解后, 定容至 900ml, 高压灭菌。

3, 待溶液冷却至 60 度以下, 加入 100ml 灭菌磷酸盐缓冲液。

● 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。
2. 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。