

Stable Electro

Stable Electroporation-Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G27007

保存条件: -80℃

产品规格: 5×50μl 20×50μl

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 电击感受态细胞只能用于电击转化，不可用于热激转化。-MLBio

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。**lacZ 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。

MLBio 开发的 **Stable** 电击感受态细胞适用于大质粒的构建或者各种具有末端重复序列的复杂 DNA 文库构建，经特殊工艺制作，**pUC19** 质粒检测转化效率 $>2 \times 10^{10}$ cfu/ μ g DNA。

操作说明

1.0.1cm 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。

2.取 -80°C 保存的 **Stable** 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。

A. 测定转化效率使用 $1 \mu\text{l}$ $10 \text{ pg}/\mu\text{l}$ 的对照质粒 **pUC19**;

- B. 对于连接产物，请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液 (10mM TrisHCl, pH7.5;1mM EDTA)重悬，DNA 浓度不超过 100ng/ μ l，体积不超过 5 μ l/50 μ l 感受态
- 3.用 200 μ 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。
 - 4.启动电转仪，设置参数：C=25 μ F，PC=200 Ω ，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。
 - 5.立即 向电击杯中加入 1000 μ l 不含抗生素的无菌培养基 S.O.C.，混匀后转移到空 50ml 管中，并用 1ml SOC 轻柔冲洗电转杯并转移到 50ml 管中，另补加 3ml SOC 培养基， 37 $^{\circ}$ C，200 rpm 复苏 60 分钟。
 - 6.5000 rpm 离心一分钟收菌，重悬后取 100-200 μ 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 培养箱过夜培养过夜。

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 TrisHCl, pH7.5; 1 mM EDTA) 重悬产物，保证 DNA 浓度不超过 100ng/ μ l。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℃ 以下，高于 -80℃ 超期储存会导致转化效率会下降。