

Stb12 化学转化感受态使用说明

◇ 产品简介

本品为大肠杆菌 Stb12 (基因型: F- *mcrA* Δ (*mcrBC-hsdRMS-mrr*) *recA1 endA1 lon gyrA96 thi supE44 relA1* λ - Δ (*lac-proAB*)) 制作的高效感受态, 菌株来源于 JM109, 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* 基因缺失使该菌株更适于克隆甲基化的基因组序列; 同时 Stb12 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。Stb12 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。

◇ 产品规格

品名	货号	规格
Stb12 化学转化感受态	EC024H-S	10 \times 100 μ L
	EC024H-M	50 \times 100 μ L

-80 $^{\circ}$ C (12 个月)

◇ 转化方法

1. 从-80 $^{\circ}$ C 冰箱中取出感受态细胞, 放入冰中 5 min, 加入目的质粒或连接产物, 轻弹使混合均匀, 并在冰中孵育 30min;
2. 放 42 $^{\circ}$ C 水浴锅中热激 90 s, 立即插入冰中静置 2-3 min;
3. 添加 900 μ L LB 液体培养基, 37 $^{\circ}$ C 摇床 220 rpm 培养 60 min (当质粒中含有不稳定片段时, 30 $^{\circ}$ C 复苏可降低错误重组的概率,) ;
4. 离心 (质粒转化无需离心, 吸取 100 μ L 菌液涂布即可), 倒掉上清, 余下菌液均匀涂布抗性平板, 37 $^{\circ}$ C 培养箱放置过夜 (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)。

◇ 注意事项

1. 感受态细胞解冻后应立即使用, 不可在冰中放置过长时间。
2. 不能用移液器抽吸感受态细胞, 用手指轻弹混匀即可。
3. 质粒使用量 <50 ng 即可获得很好的转化。