

SURE 感受态细胞

SURE Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G2008

保存条件: -80℃

产品规格: 10×100μl 50×100μl

产品介绍

基 因 型

E.coli B e14-(McrA-) Δ(mcrCB-hsdSMR-mrr)171 endA1 gyrA96 thi-1 supE44 relA1 lac recB recJ sbcC umuC::Tn5 (Kanr) uvrC [F' proAB lacIqZ Δ M15 Tn10 (Tetr)].

简 要 说 明

真核生物 DNA 存在较多“十字型”、“Z 字型”等二级或三级结构，这种 DNA 结构在利用传统大肠杆菌进行克隆时易被大肠杆菌体内的重组酶系统或其他防御系统识别并对其进行重组，删除等破坏，导致很难对这类 DNA 进行正确的克隆操作。SURE 菌株可以解决这些问题：此菌株体内重组酶系统整条通路被破坏，并且(McrA-, McrCB-, McrF-, Mrr-, HsdR-) 这些限制性突变的存在赋予此菌株无法对外源 DNA 进行标记、限制的能力，提高了外源甲基化 DNA 的克隆效率，同时具有核酸酶(endA)突变、重组酶 (recB recJ)突变，增强了外源 DNA 的稳定性。存在于 F' 因子上的 lacIqZ Δ M15 基因使此菌株可以进行蓝白斑筛选；Kanr, Tetr 赋予菌株卡那霉素和四环素抗性。MLBio High5™ 系列 SURE 感受态细胞由特殊工艺制作，经 pUC19 质粒检测转化效率达 $5 \times 10^8 \text{cfu}/\mu\text{g}$ 。

操 作 说 明

1. MLBio SURE 感受态细胞放置冰中融化（或放手心或室温片刻，待菌体处于冰水混合状态时迅速插入冰中），加入目的 DNA（质粒或连接产物）并用手拨打 EP 管底轻轻混匀，冰上静置 25 分钟。
2. 42℃ 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（2YT 或 LB），混匀后 37℃，200rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000rpm 离心一分钟收菌，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 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37℃ 培养箱过夜培养。

注 意 事 项

1. MLBio 感受态细胞最好在冰上融化。
2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作。
3. 操作过程中勿将感受态暴露于氧化性环境中，例如超净台应将臭氧排净后再使用。
4. 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。
5. MLBio 此菌株具有卡那霉素，四环素抗性，拥有这两种抗性的质粒无法使用；对 $<40 \mu\text{g/ml}$ 氯霉素有抗性，但对 $100 \mu\text{g/ml}$ 氯霉素敏感。使用其他抗生素参考浓度：氨苄青霉素（终浓度： $100 \mu\text{g/ml}$ ），氯霉素（终浓度： $100 \mu\text{g/ml}$ ）。
6. MLBio High5™ 系列 SURE 感受态细胞采用常规转化方法，转化效率可达 $5 \times 10^8 \text{cfu}/\mu\text{g}$ 。；如果有更高要求，可尝试 Stratagene 公司推荐的标准 protocol。

Stratagene standard protocol

1. Pre-chill a 14-ml BD Falcon polypropylene round-bottom tubes on ice. Preheat NZY+ broth to 42°C .
2. Thaw the cells on ice. When thawed, gently mix and aliquot $100 \mu\text{l}$ of cells into the pre-chilled tubes.
3. Add $4 \mu\text{l}$ of the β -ME (β 巯基乙醇) to the aliquot of cells.
4. Swirl the tubes gently. Incubate the cells on ice for 10 minutes, swirling gently every 2 minutes.

5. Add 0.1-50 ng of the experimental DNA (or 2 μ l of a ligation mixture) to the aliquot of cells.
6. Swirl the tubes gently, then incubate the tubes on ice for 30 minutes.
7. Heat-pulse the tubes in a 42°C water bath for 30 seconds. The duration of the heat pulse is critical.
8. Incubate the tubes on ice for 2 minutes.
9. Add 0.9 ml of preheated (42°C) NZY+ broth and incubate the tubes at 37°C for 1 hour with shaking at 225-250 rpm.
10. Plate ≤ 200 μ l of the transformation mixture on LB agar plates containing the appropriate antibiotic (and containing IPTG and X-gal if color screening is desired).
11. Incubate the plates at 37°C overnight. If performing blue-white color screening, incubate the plates at 37°C for at least 17 hours to allow color development (color can be enhanced by subsequent incubation of the plates for 2 hours at 4°C).