

# 产 品 说 明 书

产品名称：Stb13 感受态细胞

产品货号：XK002

## 产品组分

组分	XK002-10	XK002-100
Stb13 Competent cell	10×100μl	100×100μl
pUC19 (0.1ng/μl)	5μl	5μl

## 储存条件

-80°C保存，避免反复冻融。

## 产品介绍

本公司生产的 Stb13 感受态细胞是衍生自大肠杆菌 HB101 菌株，经特殊工艺处理得到的感受态细胞。特别适用于克隆不稳定载体片段，如含有同向重复序列的慢病毒 DNA 和其他反转录病毒载体。使用 pUC19 质粒检测，转化效率可达 108 cfu/μg DNA，-80°C保存几个月转化效率不发生改变。每支感受态可以酌情分装使用，降低了实验的成本。质量稳定，使用方便，质优价廉。

## 基因型

F-mcrBmrrhsdS20(rB-, mB-) recA13supE44ara-14galK2lacY1proA2rpsL20(StrR)xyl-5λ-leu mtl-1

## 产品特点

常规质粒制备的宿主菌，慢病毒载体系统推荐使用的菌株，对慢病毒载体等较大的质粒转化的效果好，有效抑制长片段末端重复区的重组，减低错误重组的可能性。此外，细胞非常稳定，能提高慢病毒载体或其它不稳定载体的克隆效率。

## 抗生素耐药性

细胞具有链霉素抗性。

## 操作步骤（以下操作均按无菌条件的标准进行）：

### 提示

感受态细胞应保存在-80°C，不可多次冻融和放置时间过长，以避免降低感受态细胞的转化效率。进行转化操作时，应根据相应温度及无菌条件的要求进行。为防止转化实验不成功，可以保留部分连接反应液，以重新转化，将损失降到最低。

1. 取感受态细胞置于冰浴中，如需分装可将刚融化细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中，置于冰浴中。（一次转化感受态细胞的建议用量为 50-100μl，可以根据实际情况分装使用。应注意所用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一），以下实验以 100μl 感受态细胞为例。
2. 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA，轻轻旋转离心管以混匀内容物，在冰浴中静置 30 分钟。

3. 将离心管置于 42°C 水浴中放置 60 秒钟，然后快速将管转移到冰浴中，使细胞冷却 2 分钟，该过程不要摇动离心管。（此步骤也可将离心管置于室温进行，时间不需十分准确，夏季或室温较高时，可放置 5-8 分钟左右；如果室温较低，可延长时间至 8-15 分钟左右。条件允许建议使用 42°C 热激方法。）
4. 向每个离心管中加入 500µl 无菌的 SOC 或 LB 培养基（不含抗生素），混匀后置于 37°C，150rpm，摇床振荡培养 60 分钟，目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达，使菌体复苏。
5. 无菌条件下，取适量菌液加到含相应抗生素的 LB 固体培养基平板上，用无菌的细菌涂布器或玻璃珠将细胞均匀涂开。等平板中的液体完全吸收后，倒置平板，37°C 培养 12-16 小时。（涂布用量可根据具体实验来调整。转化质粒在 10ng 左右，90mm 平皿涂布 100µl，55mm 平皿涂布 50µl；连接产物的转化菌液建议离心后倒掉大部分上清，余 200µl，取 100µl 用于涂布。）保留剩余的菌液于 4°C 冰箱中，视平板上菌落生长情况决定去留。

## 常见问题与解决办法

Q1: 转化后平板不长菌或长菌数较少?

A1:

- 1) 上游连接效率较低。建议检查上游插入片段质量、连接比例、反应温度及时间是否合适；
- 2) 感受态细胞失效或效率降低。使用新鲜感受态细胞，感受态请勿反复冻融，建议使用本产品中附带 pUC19 质粒做一组阳性对照实验；
- 3) 抗生素存在问题。检查抗生素是否失效，抗生素种类、用量是否正确，建议重新配制平板重复实验。

Q2: 转化后平板出现卫星菌落或杂菌?

A2:

- 1) 抗生素存在问题。检查抗生素是否失效，用量是否正确，氨苄抗性可适当提高抗生素浓度；
- 2) 培养温度或时间不合适。检查培养箱温度，37°C 培养时间不宜过长；
- 3) 存在污染。感受态细胞在操作过程中被污染，建议做一组阴性对照实验（不加 DNA 只转化空感受态于抗性平板）检查操作过程是否污染了相同抗性的菌株。若存在污染，建议更换试剂及耗材，可使用核酸清洁剂（目录号：ND709）对实验台面、环境进行清洁。