

NS3529 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT# : DL3010)

NS3529 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- *recA endA1 mcrA (mcrB, mrr, hsdR, hsdM)* Aimm434nin5X1-CRE

● 产品说明

NS3529 菌株是一种表达 CRE 酶的大肠杆菌菌株。此菌株体内重组酶系统整条通路被破坏;重组酶缺陷型 (*recA*)减少插入片段的同源重组概率,保证质粒 DNA 的稳定性。同时 NS3529 菌株可表达来自 P1 噬菌体的 CRE 酶,可用于利用 Cre-LoxP 系统的进行重组的大质粒构建或人工染色体合成。NS3529 感受态细胞经特殊工艺制作,pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率>1×10⁹ cfu/µg DNA。

● 操作方法

1. NS3529 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 管底轻轻混匀(避免用枪吸打),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 (2YT 或 LB),混匀后 37°C,200 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 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37°C培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作,将平板放 37°C培养至少 15 h。

● 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. 混入目的 DNA 时应轻柔操作。
3. 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。