

### SURE Chemically Competent Cell 产品说明书

#### ● 产品规格 (CAT#: DL1065)

SURE Competent Cell	100μ l/支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件 (保质期):	-80°C (6 个月)

#### ● 基因型

*E. coli* B e14'(mcrA<sup>-</sup>) Δ(mcrCB-hsdSMR-mrr)171 endA1 gyrA96 thi-1 supE44 relA1 lac recB recJ sbcC umuC::Tn5 (Kan<sup>r</sup>) uvrC [F' proAB lac<sup>+</sup>ZΔM15 Tn10 (Tet<sup>r</sup>)]

#### ● 产品说明

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<sup>-</sup>, mcrCB<sup>-</sup>, mcrF<sup>-</sup>, mrr<sup>-</sup>, hsdR<sup>-</sup>)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,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 lac<sup>+</sup>ZΔM15 基因使此菌株可以进行蓝白斑筛选; Kan<sup>r</sup>, Tet<sup>r</sup> 赋予菌株卡那霉素和四环素抗性。SURE 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp<sup>r</sup>) 检测转化效率 > 5 × 10<sup>8</sup> cfu/μg DNA。

#### ● 常规操作方法

1. SURE 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°C 培养箱过夜培养。

#### ● 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。混入目的 DNA 时应轻柔操作。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。
2. 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 μg/ml 氯霉素有抗性,但对 100 μg/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 μg/ml), 氯霉素(终浓度: 100 μg/ml)。
3. 若要获得大量,高纯度质粒,建议在 TB 培养基(唯地 CAT#: CM1018L)中摇菌培养(以标准质粒 PUC19 为例:在 TB 营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为 LB 的 3-4 倍, SOC 的 2 倍)