

Stable 96-well plates

Chemically Competent Cell 产品说明书

DL-96/8 系列产品为 96 孔板/8 连管包装感受态, 除以下产品规格外, 可根据客户需求定制感受态体积和包装形式

● 产品规格和内容:

包装名称	货号	包装数量×含量	保存条件/保质期
无裙边 96 孔板感受态	CAT#: DL-96NA1080	96×100ul	-80°C/6 个月
半裙边 96 孔板感受态	CAT#: DL-96H1080	96×100ul	-80°C/6 个月
带裙边 96 孔板感受态	CAT#: DL-96W1080	96×100ul	-80°C/6 个月
96 孔圆孔圆底深孔板 (1.2ml) 感受态	CAT#: DL-9612RDW1080	96×100ul	-80°C/6 个月
96 孔圆孔圆底深孔板 (2ml) 感受态	CAT#: DL-9620RDW1080	96×100ul	-80°C/6 个月
96 孔方孔圆底深孔板 (1.2ml) 感受态	CAT#: DL-9612SDW1080	96×100ul	-80°C/6 个月
96 孔方孔圆底深孔板 (2.2ml) 感受态	CAT#: DL-9622SDW1080	96×100ul	-80°C/6 个月
八连管感受态	CAT#: DL-8ST1080	8×100ul	-80°C/6 个月

● 基因型

F' proA+B+ lac^R Δ(lacZ)M15 zff::Tn10 (Tet^R) Δ(ara-leu) 7697 araD139 fhuA ΔlacX74 galK16 galE15 e14-φ80dlacZΔM15 recA1 relA1 endA1 nupG rpsL (Str^R) rph spoT1 Δ(mrr-hsdRMS-mcrBC)

● 产品说明

Stable 菌株是 NEB 公司开发的高转化效率菌株, 是逆转录病毒/慢病毒载体系统推荐使用的菌株, 特别适合慢病毒或具有末端重复序列 DNA 片段的克隆。基因组含有重组酶 recA1 relA1 突变, 可有效抑制长片段末端重复区的重组, 降低错误重组的概率; 同时含有核酸酶 endA1 突变, 避免了提取质粒过程中核酸酶的污染, 大大提高了高纯度病毒质粒的产量和质量。lacZΔM15 的存在使 Stable 可用于蓝、白斑筛选, 此菌株具有四环素和链霉素抗性。Stable 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。

● 热激转化操作方法(90min)

1. Stable 感受态细胞从 -80°C 拿出, 迅速插入冰中, 2 分钟后待菌块融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用移液器轻轻吸打混匀, 冰中静置 25 分钟。
2. 42°C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰中, 静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入适量不含抗生素的无菌培养基 (SOC 或 LB), 混匀后 37°C, 200-500 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心 30S, 收集菌体, 留取适量上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 SOC/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。
6. 也可在第 3 步直接加入适量 SOC/LB 或 TB 培养基 (唯地 CAT#: CM1018L), 300-1500 rpm 摇菌, 收菌提质粒(适合深孔板)。

● 快速转化操作方法 (10min)

1. 提前 15 分钟将用到的筛选培养基平板拿到 37°C 预热。
2. 感受态细胞从 -80°C 拿出，迅速插入冰中，2 分钟后待菌块融化，加入目的 DNA（质粒或连接产物）并用移液器轻轻吸打混匀，冰中静置 ≥ 5 分钟。
3. 将感受态细胞-DNA 混合物转移到已经 37°C 预热的 LB 培养基上，涂均匀，表面无水渍，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 15h。
4. 也可直接加入适量 SOC/LB 或 TB 培养基（唯地 CAT#: CM1018L），300-1500 rpm 摇菌，收菌提质粒（适合深孔板）。

● 注意：感受态细胞用快速转化方法涂氨苄/羧苄青霉素抗性平板时效率较高，若涂卡那霉素或其他抗生素平板，转化效率下降（因无孵育步骤，卡那霉素等对菌体毒性较大）。若要提高卡那霉素或其他抗性质粒的转化效率，可增加孵育步骤：37 度孵育 30-60min。

● 快速热激转化操作方法 (25min, 可提高转化效率)

1. 感受态细胞从 -80°C 拿出，迅速插入冰中，2 分钟后待菌块融化，加入目的 DNA（质粒或连接产物）并用移液器轻轻吸打混匀，冰中静置 5 分钟。
2. 42°C 水浴热激 45 秒，迅速放回冰中，静置 2 分钟（晃动会降低转化效率）。加入适量不含抗生素的 SOC/LB，37°C，200-500 rpm 复苏 10 分钟，涂板（涂均匀，表面无水渍）。
3. 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 15h。
4. 也可直接加入适量 SOC/LB 或 TB 培养基（唯地 CAT#: CM1018L），300-1500 rpm 摇菌，收菌提质粒（适合深孔板）。

● 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。
2. 快速转化感受态细胞涂氨苄/羧苄青霉素抗性平板时效率较高，若涂卡那霉素或其他抗生素平板，转化效率下降（因无孵育步骤，卡那霉素等对菌体毒性较大）。若要提高卡那霉素或其他抗性质粒的转化效率，可增加孵育步骤：37 度孵育 30-60min。
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。
4. 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）。