

SURE Electro

SURE Electroporation-Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G27009

保存条件: -80℃

产品规格: 5×50μl 20×50μl

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 sbcCumuC::Tn5 (Kanr) uvrC [F' proAB lacIqZ Δ M15 Tn10 (Tetr)]

简 要 说 明

SURE 电击感受态细胞只能用于电击转化，不能用于热激转化。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，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。

MLBioSURE 电击感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率 $>0.5 \times 10^{10}$ cfu/ μ g DNA。

操作说明

1.0.1cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5 分钟，待其沥干水分，正置 5 分钟，使乙醇充分挥发，待乙醇挥发干净立即插入冰中，压实冰面，电极杯顶离冰面 0.5cm 以方便盖上杯盖，冰中静置 5 分钟充分降温。

2.2.取-80℃保存的 **SURE** 电击感受态细胞插入冰中 5 分钟，待其融化，加入目的 DNA(质粒或连接产物)并用手拨打 EP 管底轻轻混匀，避免产生气泡，立即插入冰中。

A.测定转化效率使用 1 μ l 10 pg/ μ l 的对照质粒 pUC19;

B.对于连接产物，请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液 (10 mM Tris HCl, pH7.5; 1 mM EDTA)重悬，DNA 浓度不超过 100 ng/ μ l，体积不超过 5 μ l/50 μ l 感受态。

3.用 200 μ l 枪头(用刀切除 0.5cm 枪尖)将感受态-DNA 混合物快速移到电击杯中，避免产生气泡，盖上杯盖。

4.启动电转仪，设置参数：C=25 μ F，PC=200 Ω ，V=1.8 kV (此为 BioRad 电转仪推荐参数，也可按所用 电转仪推荐的参数操作)，将电击杯快速放入电转槽中，电击完成快速插入冰中。

5.立即 向电击杯中加入 1000 μ l 不含抗生素的无菌培养基 S.O.C.，混匀后转移到空 50ml 管中，并用 1ml SOC 轻柔冲洗电转杯并转移到 50ml 管中，另补加 3ml SOC 培养基， 37 $^{\circ}$ C，200 rpm 复苏 60 分钟。

6.5000 rpm 离心一分钟收菌，重悬后取 100-200 μ l 涂布到含相应抗生素的 S.O.C 平板上 (因菌量较大，若全部涂板请选用直径 15cm 培养皿 2-5 个)。将平板倒置放于 37 $^{\circ}$ C 培养箱过夜培养 13-17 小时。

注 意 事 项

1. 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 电击感受态细胞加入电击杯应避免产生气泡，气泡会增加弧光放电风险。
3. 当 DNA 不纯或存在盐，乙醇，蛋白及缓冲液等污染时，转化效率急剧下降。
4. 电击杯里的离子可增加溶液的电导，增大在含有细胞和 DNA 的溶液中产生电流和弧光放电的风险。