

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#: 90208-10  
干冰运输, -80℃保存

**TIANDZ**

## 大肠杆菌 SURE 化学感受态细胞

*E.coli* SURE Chemical Competent Cell

使用手册 V1.2

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

## 产品及特点

本产品是采用大肠杆菌 SURE 菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞，可直接用于 DNA 的化学转化。本试剂盒具有下列特点：

1. 使用 pUC19 质粒检测，转化效率可达  $10^8$ ， $-80^{\circ}\text{C}$  保存几个月转化效率不改变。
2. 主要用于克隆不稳定的 DNA 片段，如重复序列、Z-DNA 等。
3. 本产品质量稳定，使用方便，质优价廉。
4. 大肠杆菌 SURE 菌株基因型是 K-12, e14-(*mcrA*-),  $\Delta$ (*mcrCB-hsdSMR-mrr*)171, *endA1*, *gyrA96*, *thi-1*, *supE44*, *relA1*, *lac*, *recB*, *recJ*, *sbcC*, *umuC::Tn5* (*Kanr*), *uvrC*。其基因型符号及其含义列表如下：

基因型符号	含义
K-12	本菌种属于K-12系，本系所有菌种都携带F因子和 $\lambda$ 、e14、rac三种原噬菌体。
[F <sup>+</sup> <i>proAB lacIqZ<math>\Delta</math>M15</i> Tn10 (Tetr)]	本菌种的 F 因子还携带 <i>proAB lacIqZ<math>\Delta</math>M15</i> Tn10。其中野生型的 <i>proAB</i> 可合成脯氨酸； <i>lacI<sup>q</sup></i> 使 <i>lacI</i> 抑制蛋白过表达，对 <i>lac</i> 启动子的抑制加强，降低背景表达；又叫 <i>lacZ<math>\Delta</math>M15</i> ，编码 $\beta$ -半乳糖苷酶基因 $\omega$ 片段，与携带 $\alpha$ 片段的质粒互补可恢复酶活性，用于蓝白斑筛选；Tn10 转座子带四环素抗性
e14 <sup>-</sup> ( <i>mcrA</i> -)	本菌种的 e14 原噬菌体缺失，故其携带的 <i>mcrA</i> 基因也缺失，丧失对甲基化 CG 的切割
<i>endA1</i>	缺失核酸内切酶 I
<i>gyrA96</i>	DNA 促旋酶突变，导致对萘啶酮酸和荧光喹啉的抗性
<i>lac</i>	染色体缺失 <i>lac</i> 操纵子
$\Delta$ ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )171	缺失对甲基化 C 的限制、缺失 EcoK 修饰限制系统，缺失对甲基化 A 的限制
<i>recB</i>	<i>recBCD</i> 重组系统的重组辅助酶 ExoV 失活，重组和损伤修复功能复
<i>recJ</i>	重组缺失，降低质粒间的重组
<i>relA1</i>	戒严反应缺失，RNA 合成可以在蛋白合成停止后继续进行
<i>sbcC</i>	<i>RecF</i> 重组途径突变，有利于扩增携带回文结构的噬菌体和质粒
<i>supE44</i>	使琥珀终止子编码谷氨酰胺，为某些质粒和噬菌体生长所需
<i>thi-1</i>	不能合成硫氨（维生素 B1）
<i>umuC::Tn5</i>	SOS 修复突变，增加回文结构稳定性。携带的 Tn5 转座子带卡拉霉素抗性

		<i>uvrC</i>	UV修复缺失, 增加回文结构稳定性	
<b>规格及成分</b>		成分	编号	小扁盒包装
		大肠杆菌 SURE 化学感受态细胞	90208	0.1 mL × 10
		使用手册	90208sc	1 份
<b>运输及保存</b>	干冰运输、-80℃保存, 有效期半年。			
<b>自备试剂</b>	目的 DNA、SOC 或 LB 培养基等			
<b>使用方法</b>	<p>1. 取感受态细胞置于冰浴中。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。</p> <p><b>以下实验以 50 μl 感受态细胞为例。</b></p> <p>2. 待感受态细胞融化后, 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA (根据实际情况加入适量的 DNA, 通常 100 μl 感受态细胞能够被 1 ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和), 用移液器轻轻吹打混匀, 冰浴 30 分钟。</p> <p>3. 42℃热击 90 秒, 迅速将离心管转移到冰浴中, 冰上静置 2-3 分钟。</p> <p>4. 每个离心管中加入 450 μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37℃摇床, 150 rpm 振荡培养 45 分钟使菌体复苏。</p> <p>5. 根据实验需求, 取适量已转化的感受态细胞, 加到含有相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 用无菌的涂布棒将细胞均匀涂开, 将平板置于 37℃直至液体被吸收, 倒置培养, 37℃培养 12-16 小时。</p> <p><b>注意:</b></p> <p>1. 涂布用量可根据具体实验调整。若转化的 DNA 总量较多, 可取少量转化产物涂布平板; 若转化的 DNA 总量较少, 可取 200-300 μl 转化产物涂布平板。若预计的克隆数较少, 可通过离心 (4,000 rpm, 2 分钟) 后吸除部分培养液, 悬浮菌体后将其涂布于平板中。</p> <p>2. 新制备的固体培养基不易涂干, 可将平板正置于 37℃直至液体被吸收后再倒置培养。</p> <p>3. 涂布剩余的菌液可置于 4℃保存, 如果次日的转化菌落数过少, 可以将剩下的菌液再涂布新培养基进行培养。</p>			