

Stbl3 感受态细胞

Stbl3 Chemically Competent Cell

保存条件： -80℃

产品规格:

Stbl3	10×100μl
pUC19 (control vector)	10pg/μl; 10μl

基 因 型

F- *mcrB mrr hsdS20*(r_B⁻, m_B⁻) *recA13 supE44 ara-14 galK2 lacY1 proA2 rpsL20*(Str^R) *xyI-5 λ*
-leu mtl-1 endA1+

简 要 说 明

Stbl3 菌株来源于 HB101 *E. coli* strain，是慢病毒载体系统推荐使用的菌株。基因组含有重组酶 *recA13* 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; 但不含核酸酶 *endA1* 突变，体内核酸酶含量较高，提取质粒时务必使用质粒提取试剂盒中去蛋白液。此菌株具有链霉素抗性，不存在 *lacI^qZ Δ M15*，不可用于蓝、白斑筛选。Stbl3 感受态细胞经特殊工艺制作，经 pUC19 检测转化效率 >10⁸cfu/μg DNA。

操 作 说 明

1. Stbl3 感受态细胞放置冰中融化（或放手心或室温片刻，待菌体处于冰水混合状态时迅速插入冰中），加入目的 DNA（质粒或连接产物）并用手拨打 EP 管底轻轻混匀，冰上静置 25 分钟。
2. 42℃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 0.9 mL 室温 S.O.C. 培养基或 LB 培养基（推荐使用 SOC 培养基，可提高转化效率）。

4. 30℃，225 rpm 复苏 90 分钟。（当质粒中含有不稳定片段时，30℃培养可降低错误重组的概率，若转化 **control PUC19** 计算转化效率，则需 37℃，225 rpm 复苏 60 分钟。）
5. 5000rpm 离心一分钟收菌，留取 100μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 S.O.C. 培养基上。
6. 将平板倒置放于 30℃培养箱过夜培养。（若转化 **control PUC19** 计算转化效率，则需 37℃培养过夜）

注 意 事 项

1. 对不稳定 DNA 片段的克隆或逆转录病毒/慢病毒载体的构建，涂板后平板应在 30℃培养，以减少发生错误重组的概率。
2. 制备高纯度病毒质粒时，应使用新鲜转化的平板接菌，新鲜菌液提取质粒，菌液不可低温保存后使用。
3. 对不稳定的克隆或病毒质粒优先以质粒状态保存，尽量避免将质粒保存在大肠杆菌细胞中。
4. S.O.C.或 LB 培养基均可使用，S.O.C.可提高转化效率 20%；实验人员可选择在 37℃或 30℃培养细胞，37℃条件下，菌生长速度加快，有利于提高质粒产量，30℃培养可降低错误重组概率。
5. 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。
6. 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。