



# Stb14 感受态细胞

## 产品信息:

组成	BC115-01
Stb14 Competent cells	20×100μl
pUC19 (0.1ng/μl)	5μl

**储存条件:** -70℃保存，避免反复冻融。

## 产品说明:

Stb14 菌株来源于 Stb12 菌株 (Stb12 为 JM109 衍生菌株)，用于克隆不稳定序列 (如重复序列，逆转录病毒序列等) 和甲基化的 DNA 序列，特别适合构建重组逆转录病毒或慢病毒质粒。可用于大质粒的构建和扩增，适用于构建和扩增质粒 cDNA 文库。区别于 Stb12 菌株，Stb14 菌株在 IPTG 和 X-gal 存在的条件下，可进行 α 互补原理的蓝白斑筛选实验。感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率大于 10<sup>8</sup> cfu/μg。

## 基因型:

*mcrA Δ(mcrBC-hsdRMS-mrr)recA1endA1gyrA96gal-thi-1supE44 λ- relA1 Δ(lac-proAB)/F' proAB+ lacIqZΔM15 Tn10 (Tet<sup>R</sup>)*

**菌株抗性:** 对氨基青霉素，卡那霉素，壮观霉素敏感，对四环素有抗性。

## 质粒转化步骤:

1. 将感受态细胞置于冰水浴中化冻。待细胞刚化冻后，加入质粒 DNA 或 5-10μl 连接产物到细胞中，用手指拨打管底，轻轻混匀；
2. 冰水浴中放置 15-30 分钟，不要晃动；
3. 42℃热击 60 秒钟，不要晃动；
4. 冰水浴中放置 2 分钟，不要晃动；
5. 加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基；
6. 置于 37℃摇床中，150-200rpm 震荡复苏培养 60 分钟；
7. 取 50-100μl 菌液涂布在含有抗性的 LB 平板上。待液体吸干后，倒置平板，37℃培养 12-16 小时。

(当克隆不稳定片段时，为了降低重组错误率，复苏培养和涂布培养最好采用 30℃的培养条件，平板在 30℃培养时需要 24 小时左右。)

(平板划线分离法: 复苏培养结束后，12000rpm 离心 30 秒钟，弃掉上清，留 100μl 左右的液体，用 200μl 吸头轻轻吹打散菌块，取 10μl 重悬的菌液分多点滴在抗性 LB 平板上，倾斜吸头，用吸头头部的侧面将滴在平板上的液体来回划线。37℃培养过夜。这个方法可以获得更多更大的单克隆菌落。)

BM190318