



SURE 2 感受态细胞

产品信息:

组成	BC131-01
SURE 2 Competent cells	10×100μl
pUC19 (0.1ng/μl)	5μl

储存条件: -70℃保存, 避免反复冻融。

产品介绍:

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 2 菌株可以解决这个问题: 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 lacIqZΔM15 基因使此菌株可以进行蓝白斑筛选; Kan^R, Tet^R 赋予菌株卡那霉素和四环素抗性。SURE 2 感受态细胞由特殊工艺制成, pUC19 质粒检测转化效率达 1×10^8 cfu/μg DNA。

菌株抗性: 具有卡那霉素, 四环素抗性, 拥有这两种抗性的质粒无法使用。

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 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 LB 培养基;
6. 置于 37℃摇床中, 150-200rpm 震荡复苏培养 60 分钟;
7. 取 50-100 μl 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℃过夜培养。