



# Endura 大肠杆菌化学感受态细胞

## 产品信息:

| 组成                 | BC133-01 |
|--------------------|----------|
| Endura 大肠杆菌化学感受态细胞 | 10×100μl |
| pUC19 (0.1ng/μl)   | 10μl     |

**储存条件:** -70℃保存, 避免反复冻融。

## 产品介绍:

Endura 大肠杆菌具有维持不稳定 DNA 序列稳定性的特殊能力, 尤其适用于含有反向重复序列或易于发生重组的困难片段克隆。这类不稳定的插入片段在传统克隆菌株中往往难以有效分离和扩增, 而 Endura 菌株能显著抑制重复序列区间的重组现象, 确保插入片段在传代过程中的稳定遗传。该菌株特别推荐用于慢病毒载体构建、CRISPR 文库扩增以及 GeCKO (Genome-Scale CRISPR Knockout) 文库等对克隆稳定性要求较高的操作。Endura 感受态细胞采用特殊工艺制备, 经 pUC19 质粒检测, 其转化效率通常可超过  $1 \times 10^9$  cfu/μg。

**基因型:** *recA13 supE44 ara-14 galK2 lacY1 proA2 rpsL20 (Str<sup>R</sup>) xyl-5 λ<sup>-</sup> leu mtl-1 F<sup>-</sup> mcrB mrr hsdS20(rB<sup>-</sup> mB<sup>-</sup>)*

**菌株抗性特点:** 该菌株具有链霉素抗性, 但对氨苄青霉素、卡那霉素、四环素、壮观霉素和氯霉素敏感。

## 质粒转化步骤

1. 取感受态细胞置于冰水浴中解冻。待其刚刚融化时, 加入目的质粒 DNA 或 5-10 μl 连接产物, 用手指轻弹管底, 混匀。
2. 将混合物继续在冰水浴中静置 30 分钟, 期间请勿晃动。
3. 迅速转移至 42℃水浴, 热激 60 秒, 过程中勿移动离心管。
4. 立即放回冰水浴, 静置 2 分钟, 勿晃动。氨苄青霉素抗性的质粒, 步骤 4 完成后, 可直接涂布或划线于含氨苄青霉素的固体平板上。其他抗性的质粒仍需要加培养基复苏培养, 待质粒上的抗性基因表达产物表达 (如质粒上的 Kan 基因表达卡那霉素磷酸转移酶) 后才能涂布。
5. 加入 500-1000 μl 无菌 SOC 或 LB 培养基。
6. 置于 37℃摇床中, 以 150-200 rpm 振荡培养 60 分钟, 进行复苏。
7. 取 50-100 μl 菌液, 涂布于含相应抗生素的 LB 平板上。待菌液被平板吸收后, 倒置平板, 于 37℃培养 12-16 小时。

## 附: 平板划线分离法 (可选)

1. 复苏培养结束后, 12,000 rpm 离心 30 秒, 弃去大部分上清, 保留约 100 μl。
  2. 使用 200 μl 吸头轻柔吹打, 重悬菌体。
  3. 取 10-50 μl 菌液, 在抗性平板的不同位置点若干液滴。
  4. 倾斜吸头, 以其侧面将液滴在平板表面来回交叉划线将液滴划开。
  5. 待平板稍干后, 倒置平板并于 37℃培养 12-16 小时。
- 该方法有助于获得分散的、更大的单克隆菌落。