



E. cloni 10G 大肠杆菌化学感受态细胞

产品信息:

组成	BC134-01
E. cloni 10 大肠杆菌化学感受态细胞	10×100 µl
pUC19 (0.1 ng/µl)	10 µl

储存条件: -70℃保存，避免反复冻融。

产品说明

E. cloni 10G 基因工程大肠杆菌化学感受态细胞可通过热激法实现高效转化，可作为 DH5α、DH10B、JM109、TOP10 及 XL1-Blue 等常用克隆菌株的直接替代品，适用于质粒、cosmid 和 fosmid 的转化与扩增。该菌株携带失活的 *mcr* 和 *mrr* 等位基因，能够稳定克隆来源于哺乳动物或植物细胞的甲基化基因组 DNA，避免发生缺失或重排；具有 *endA1* 与 *recA1* 突变，有利于获得高产量、高质量的质粒 DNA；具备 *tonA* 突变，赋予其对噬菌体 T1 的抗性。E. cloni 10G 感受态细胞采用特殊工艺制备，经 pUC19 质粒检测，其转化效率通常可达 1×10^8 cfu/µg 以上。

基因型: *F⁻ mcrA Δ(mrr-hsdRMS-mcrBC) endA1 recA1 φ80dlacZΔM15 ΔlacX74 araD139 Δ(ara, leu)7697galU galK rpsL (Str^R) nupG λ- tonA*

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

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。