



E. cloni 10G 大肠杆菌电转感受态细胞

产品信息:

组成	BC410-01
E. cloni 10G Electrocompetent cells	20×50 μL
pUC19 (0.1ng/μl)	5 μL

储存条件: -70℃保存，避免反复冻融。

产品说明

E. cloni 10G 电击感受态细胞专用于电穿孔转化，不适用于热激转化法。该菌株可作为 DH5α、DH10B、JM109、TOP10 及 XL1-Blue 等常用克隆菌株的直接替代品，广泛适用于质粒、黏粒(cosmid)及福斯质粒(fosmid)的转化与扩增。其关键遗传特征如下：携带失活的 *mcr* 和 *mrr* 基因位点，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，有效避免插入片段发生缺失或重排；携带 *endA1* 和 *recA1* 突变，有利于提高质粒 DNA 的产量与纯度；具有 *tonA* 突变，赋予其对噬菌体 T1 的抗性；同时含有 *rpsL* 突变，使其具备链霉素抗性。E. cloni 10G 感受态细胞经特殊工艺制备，以超螺旋 pUC19 质粒为对照进行测定，其转化效率通常可达 1×10^{10} cfu/μg 以上。

基因型:

F-mcrAA(mrr-hsdRMS-mcrBC)endA1recA1φ80dlacZAM15ΔlacX74araD139Δ(ara,leu)7697galUgalKrrpsL(Str^R)nupG λ-tonA

菌株抗性: 该菌株对链霉素具有抗性，对氨苄青霉素、卡那霉素、四环素、壮观霉素及氯霉素均保持敏感性。

质粒转化步骤

1. 取电极间距为 0.1 cm 的电转杯 (Gene Pulser/MicroPulser Electroporation Cuvettes, 0.1 cm gap, 1652083)，将其插入碎冰中，确保杯壁与碎冰充分接触，于冰上静置预冷 5 分钟，以保证电转杯达到充分低温状态。

(电转杯的重复使用处理流程：使用后，首先以大量自来水反复冲洗以彻底清除残留菌液及 DNA，继而用蒸馏水漂洗 3 次；将洗净的电转杯浸入 75%乙醇中浸泡 30 分钟进行灭菌，取出后沥干残余液体，置于超净工作台内通风风干，待乙醇完全挥发后加盖密封，于干燥条件下保存备用。)

2. 从 -70℃冰箱中取出保存的感受态细胞，迅速插入冰浴中。待细胞悬液刚解冻时，立即加入待转化的质粒 DNA 或连接产物 (质粒 DNA 须以无菌水溶解；对照质粒 pUC19 应以无菌水稀释至 10 pg/μL)。用手指轻弹管底数次以温和混匀，随即迅速将离心管重新置于冰上。在超净工作台内，使用无菌吸头将细胞-DNA 混合物快速转移至预冷的电转杯中，操作过程中须避免气泡产生，并确保细胞悬液沉降于杯底。盖好杯盖，并将原离心管保留备用。

注意事项:

- 测定转化效率时，取 1 μL 浓度为 10 pg/μL 的 pUC19 质粒作为阳性对照；
 - 对于连接产物，部分商品化 T4 DNA 连接酶反应体系 (如 NEB ElectroLigase) 或重组反应体系可直接与电转感受态细胞混合后进行电转，无需预先进行 DNA 纯化；
 - 若 DNA 溶液或反应体系离子强度较高，需采用离心柱纯化或乙醇沉淀法去除盐离子，最终用无菌水洗脱。
3. 启动电穿孔仪，设定电转参数为电压 1.8 kV、电容 25 μF、电阻 200 Ω (Bio-Rad GenePulser 或 GenePulser Xcell 等型号电转仪均内置预设程序)。用吸水纸擦干电转杯外壁的水分，将电转杯置入电转槽中，执行电脉冲释放。电击完成后，迅速将电转杯置于冰上，立即加入 950 μL 不含抗生素的 SOC 或 LB 液体培养基，轻柔吹打或颠倒混匀，将混合液转移至步骤 2 中保留的原离心管内，于 37℃、150–250 rpm 振荡培养 1 小时，使菌体充分复苏。
4. 取 100–200 μL 复苏后的菌液 (或经适当稀释后的菌液)，均匀涂布于含相应筛选抗生素的 LB 琼脂平板上。待菌液完全吸收后，将平板倒置，于 37℃恒温培养箱中静置培养 12–18 小时，直至单菌落清晰长出。