

Takara Stable Competent Cells

Code No. 9132

包装量: 100 μ l x 10

附带试剂:

pUC19 DNA (0.1 ng/ μ l) 10 μ l
SOC Medium 1 ml x 10

制品说明:

Takara Stable Competent Cells通过破坏同源重组相关的遗传基因, 来提高DNA的稳定性。因此, 它适用于克隆不稳定的DNA, 包括poly(A)序列和重复序列等。此外, 由于本产品缺失T1噬菌体感染所需的*thiA*遗传基因, 因此对该噬菌体具有抗性。

推荐使用In-Fusion Snap Assembly Master Mix (Code No. 638943/638944/638947~638949) 进行克隆。使用pUC类载体时, 可利用 β -半乳糖苷酶的 α -互补性, 通过X-Gal^{*}分解, 对菌落进行蓝白斑筛选。

* X-Gal: 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Galactoside

保存: -80°C

注意: 如果未在-80°C下保存, 转化效率将会降低。请使用附带的pUC19对照质粒来确认保存细胞的转化效率。不能液氮保存。

SOC Medium的组成成分:

| | |
|--------|-------------------|
| 2% | Tryptone |
| 0.5% | Yeast extract |
| 10 mM | NaCl |
| 2.5 mM | KCl |
| 10 mM | MgSO ₄ |
| 10 mM | MgCl ₂ |
| 20 mM | Glucose |

质量控制:

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc. 网站上下载:

https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php。

用途:

克隆不稳定的DNA, 包括poly(A)和重复序列等。

Genotype:

F⁻, *endA1*, *supE44*, *thi-1*, *recA1*, *relA1*, *gyrA96*, *phoA*, Δ *sbcCD*, Φ 80
dIacZ Δ M15, Δ *thiA*, Δ (*lacZYA-argF*) U169, Δ (*mrr-hsdRMS-mcrBC*), Δ *mcrA*, λ -

细胞浓度:

1 ~ 2 \times 10⁹ bacteria/ml

使用方法 (使用质粒载体转入时):

1. Takara Stable Competent Cells使用前在冰上融化。
2. 融解后, 轻轻混合感受态细胞, 将100 μ l感受态细胞移入14 ml 圆底试管 (Falcon圆管等) (不能通过振荡方式来混匀细胞)。
3. 加入需转入的质粒DNA样品 (建议 \leq 10 ng)。
4. 冰上静置30分钟。
5. 42°C温育45秒。
6. 冰上静置1至2分钟。
7. 添加SOC培养基 (预先在37°C保温) 至终体积1 ml。
8. 37°C振荡培养1小时 (160-225 rpm)。
9. 取适量涂于选择培养基^{*1, 2}。
10. 37°C过夜培养。

* 1: 如有需要, 使用步骤7中的培养基进行稀释。

* 2: 直径9 cm平板的涂布量不超过100 μ l。

使用时的注意事项:

- 请按需用感受态细胞。转移时, 请放入干冰/乙醇中。
- 可使用1.5 ml microcentrifuge tubes 代替14 ml 圆底tubes (BD Code 352059 或 352057 等) (详见使用方法步骤2), 但效率可能会降低。
- 使用100 μ l 的感受态细胞时, 加入的高纯度DNA样品不要超过10 ng。否则转化效率会降低。当改变感受态细胞数量或tube类型时, 适当调整反应条件。例如, 当使用1.5 ml microcentrifuge tubes 时, 42°C温育60秒 (详见使用方法步骤5.)。
- 培养时, 请根据所用载体, 将抗生素添加至培养基中。
- 当加入X-Gal时, 按照以下操作进行:
将20 mg/ml X-Gal (溶解于二甲基甲酰胺)按200-300 μ l/100 ml的比例加入到琼脂培养基中。
- 不建议将解冻的感受态细胞再次冷冻保存。

参考文献:

- 1) Hanahan, D. *J Mol Biol.* (1983) **166**: 557-580.
- 2) Yanisch-Perron, C., *et al. Gene.* (1985) **33**: 103-119.

相关产品:

In-Fusion[®] Snap Assembly Master Mix
(Code No. 638943/638944/638947~638949)
X-Gal (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Galactoside)
(Code No. 9031)

In-Fusion is a registered trademark of Takara Bio USA, Inc.

注意

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品, 或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权, 请联系我们, 或访问我们网站 www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术(北京)有限公司翻译制作, 最新版本文件请参考Takara Bio Inc.网站。为正确使用Takara产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202312Da