

超高效感受态细胞制备试剂盒

NCMSpeed E.coli Transformation Kit

货号: M10060 Size:150 支 X100ul;

M10200: 500 支 X100ul

产品介绍

NCMSpeed E.coli Transformation Kit 是新赛美生物科技有限公司研发可实现快速转化的感受态细胞制备试剂盒,适用于实验室多种菌株,特别是 DH5 α , JM109, DH10B, XL1-Blue 等。特殊的感受态试剂配方,使转化效率可达到 10^8 - 5×10^9 cfu/ug pUC19 DNA, 转化整个过程不需冰浴、热激和孵育等步骤,最快 30 秒即可实现完美的转化。

产品特点

- 转化快: 最快可 30 秒快速转化, 不需冰浴、热激和孵育步骤
- 效率高: 达到 10^8 - 5×10^9 cfu/ug pUC19 DNA
- 稳定性好: -70°C 冰箱可保存一年时间
- 安全性高: 不需液氮处理, 直接超低温冻存即可

操作步骤

以 50ml 的 E.coli 培养体积为例

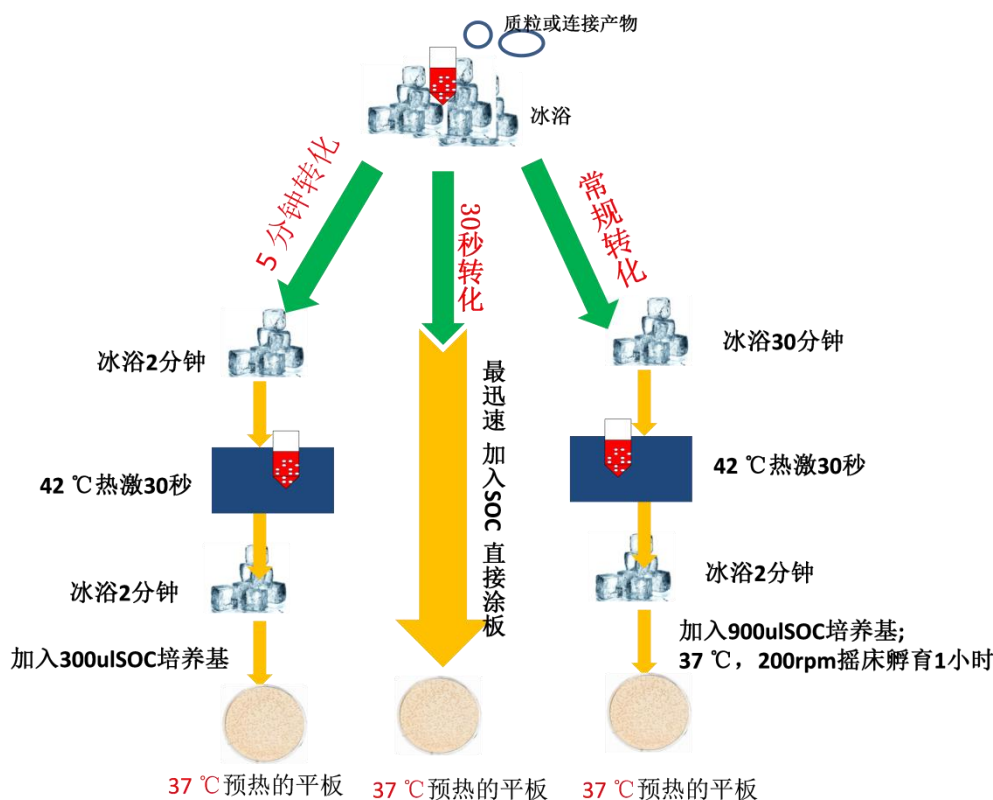
■ 感受态细胞制备操作步骤

1. 将 0.5ml 新鲜过夜培养的 E. coli 菌接种于 50ml SOB 培养基中 (1:100 比例接种), 在摇床中以 25°C , 250 rpm 条件下振荡培养, 直至 $\text{OD}_{600\text{nm}}$ 达到 0.4-0.6。
★注意: 在 25°C , 250 rpm 振荡培养可提高感受态细胞的效率; 制备感受态的 E. coli 菌株应处于生长的对数期, 即 $\text{OD}_{600\text{nm}}$ 达到 0.4-0.6, 大于 0.6 时的细菌状态变差, 小于 0.4 时细菌量较少, 均不适合制备感受态细胞。
2. 将第一步中的 E. coli 培养基转移至冰上, 冰浴 10 分钟预冷细菌。然后在 4°C 条件下, 3000rpm 离心 10 分钟。
★注意: 制备感受态细胞时所有步骤都要在低温条件下进行, 操作时动作要轻柔, 不可剧烈地处理 E. coli 菌体。
3. 弃去离心后的上清, 加入 15ml E. coli Competent Buffer, 轻柔地重悬细菌沉淀; 重复实验步骤 2 的操作。
4. 彻底地弃去上清, 加入 5ml E. coli Competent Buffer, 轻柔地重悬细菌沉淀。
5. 在冰上以 100ul 或 200ul 的体积分装 E. coli 的悬浮液, 直接冻存感受态细胞至 -70°C 超低温冰箱中 (勿用液氮处理感受态细胞)。

■ 转化步骤

多种转化形式可选：**30秒极速转化**；5分钟快速转化；常规转化

图示 2：转化流程图



注：1. 30s或5分钟转化的产物应是携带氨苄抗性质粒；其他抗性，步骤相似，但须37 °C，200rpm摇床至少孵育30分钟
2. 因菌株不同及批次差异，请每次检测制备的感受态效率：对每种转化策略，请保证在《5X10⁷ cfu/pUC19》；对多数菌株，5分钟转化即能满足要求

✚ 保存条件

低温运输，4°C保存，有效期 12 个月

✚ 注意事项

1. E. coli 菌株影响感受态效率

不同的菌株制备的感受效率差异不同，像 DH5α, JM109, DH10B, XL1-Blue, XL10 Gold, TGI 等菌株，使用 NCMSpeed E.coli Transformation Kit 制备的感受态效率较高。

2. 菌株培养条件

菌株培养时，用营养更丰富的 SOB 培养基；在 25°C，250rpm 振荡培养，会使 E. coli 菌处于最佳生长状态，更适宜用于制备感受态细胞

3. 预热平板可提高转化效率

在转化前，将 4°C 保存的平板转移到 37°C 培养箱中预热一段时间，可提高转化时的效率。

4. 转化时加入 SOC 培养基

在做转化实验时，加入营养丰富的 SOC 培养基至 DNA-感受态转化混合液中，增强感受态细胞的生长及吸收 DNA 的能力。

附录：

SOB 培养基配制

1. 组份浓度：2% (W/V) Tryptone ; 0.5% (W/V) Yeast Extract; 0.05% (W/V) NaCl; 2.5 mM KCl; 10 mM MgCl₂
2. 配制方法：
 - ① 配制 250 mM KCl 溶解：在 90 ml 的去离子水中溶解 1.86 g KCl 后，定容至 100 ml。
 - ② 配制 2 M MgCl₂ 溶液：在 90 ml 去离子水中溶解 19 g MgCl₂ 后，定容至 100 ml，高温高压灭菌。
 - ③ 称取下列试剂，置于 1 L 烧杯中：Tryptone 20g; Yeast Extract 5g; NaCl 0.5 g 。
 - ④ 加入约 800 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。
 - ⑤ 量取 10 ml 250 mM KCl 溶解，加入到烧杯中。
 - ⑥ 滴加 5 N NaOH (约 0.2 ml)，调节 pH 值至 7.0。
 - ⑦ 加去离子水将培养基定容至 1 L。

SOC 培养基配制

1. 配制 1M 葡萄糖溶液：在 90ml 去离子水中溶解 18g 葡萄糖，充分溶解后定容至 100ml，用 0.22um 滤器过滤除菌。
2. 向 100ml SOB 培养基中加入除菌的 1M 葡萄糖溶液 2ml，均匀混合。

