



EPI300 Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC135)

EPI300 :	100 μ l/支
pUC19 (control vector , 0.1ng/ μ l):	5 μ l
保存条件(保质期) :	-80 $^{\circ}$ C (6 个月)

产品介绍

EPI300 细胞含有一个突变的 *trfA* 基因, 该基因表达出的蛋白产物可以促进含有 *oriV* 复制子的质粒的高拷贝扩繁, 诱导剂 I 可以诱导 *trfA* 基因的表达。当含有 *oriV* 复制子质粒的 EPI300 细胞在 LB/2YT 或 SOB 培养基中生长时, *trfA* 基因的表达被抑制, *oriV* 复制子质粒的拷贝数维持在很低的水平; 当在培养基中加入诱导剂 I, *oriV* 复制子质粒的拷贝数可维持在很高的水平, 提高了质粒产量。因此 EPI300 菌株可以降低 *oriV* 复制子质粒的拷贝数, 特别适合于各种不稳定 DNA 或毒性基因的克隆。[*mrr-hsdRMS-mcrBC*]基因型使 EPI300 菌株适合于克隆富含甲基胞嘧啶或甲基腺嘌呤的 DNA (例如: 哺乳动物基因组 DNA)。 *recA1* 和 *endA1* 的突变有利于插入 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。 *lacZ Δ M15* 标记的存在使 EPI300 可用于蓝白斑筛选, *rpsL* 赋予其链霉素抗性。EPI300 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率可达 3×10^8 cfu/ μ g DNA。

基因型: F - *mcrA* Δ (*mrr-hsdRMS-mcrBC*) *ϕ 80dlacZ Δ M15* Δ *lacX74* *recA1* *endA1* *araD139* Δ (*ara, leu*)7697 *gaU* *gaK* λ - *rpsL* *nupG* *trfA* *dhfr*.

操作方法

1. 取感受态细胞置于冰浴中 (解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA (质粒或连接产物), 轻轻混匀, 在冰浴中放置 25 分钟。

注意: 所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞体积的 1/10。

2. 将离心管置于 42 $^{\circ}$ C 水浴中放置 60 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2 分钟, 该过程不要摇动离心管。

3. 向每个离心管中加入 700 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 180rpm 摇床振荡培养 45-60 分钟, 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。

4. 根据实验要求, 吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37 $^{\circ}$ C 培养 12-16 小时。

注意事项

1. 感受态细胞需要在冰中缓慢融化，插入冰中 10 分钟内加入目标 DNA，不可在冰中放置时间过长，长时间存放会降低转化效率。
2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作，避免用移液枪吹吸。
3. 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 感受态细胞应保存在-80℃，请避免反复冻融，以免降低感受态细胞的转化效率。
5. 为防止转化实验不成功，可以保留部分连接反应液，以重新转化，将损失降低。