



EPI400感受态细胞

EPI400 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1031

目录编号	产品名称	包装单位
☐ ZC1031-1	EPI400感受态细胞	10×100μl
☐ ZC1031-2	EPI400感受态细胞	20×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl) 5μl (质量控制用)。

储存: -70℃ 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 EPI400 化学感受态细胞是经特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒 DNA 检测, 转化效率高达 10^8 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: F⁻ mcrA Δ(mrr-hsdRMS-mcrBC) Φ80dlacZΔM15 ΔlacX74 recA1 endA1 araD139 Δ(ara, leu)7697 galU galK λ⁻ rpsL (Str^R) nupG trfA tonA pcnB4 dhfr

产品特点:

EPI400来源于EC100菌株, 将EC100核基因中控制质粒拷贝数的pcnB基因删除后引入一个诱导启动子驱动的pcnB基因, 即是EPI400菌株。EPI400菌株可以降低质粒的拷贝数, 特别适合于各种不稳定DNA或毒性基因的克隆, 在加入WDEPI-诱导剂 I 后又可以提高质粒产量到正常状态。[mcrA, Δ(mrr-hsdRMS-mcrBC)]基因型使EPI400菌株适合于克隆富含甲基胞嘧啶或甲基腺嘌呤的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。lacZΔM15 标记的存在使EPI400可用于蓝白斑筛选, tonA赋予其抗噬菌体T1和T5的能力, rpsL赋予其链霉素抗性。

操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:**取感受态细胞置于冰浴中(解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置 30 分钟。
注意: 所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:**将离心管置于 42℃ 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- **复苏:**向每个离心管中加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37℃ 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。
- **涂板:**根据实验要求 (质粒, 重组连接产物转化), 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℃ 培养 12-16 小时。

提示:

- 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下, 半小时内活性无明显变化, 因此, 同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70℃, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 请在无菌条件下, 根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸, 整个过程要轻柔, 尽量低温操作。
- 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, 将损失降到最低。