



EPI300 感受态细胞

EPI300 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1032

目录编号	产品名称	包装单位
☐ ZC1032-1	EPI300 感受态细胞	10×100μl
☐ ZC1032-2	EPI300 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 EPI300 感受态细胞是采用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 质粒检测, 转化效率 10^8 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: F⁻ mcrA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) φ80dlacZ Δ M15 Δ lacX74 recA1 endA1 araD139 Δ (ara,leu)7697 galU galK λ - rpsL nupG trfA dhfr.

产品特点:

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 ori V 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 ori V 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, ori V 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, ori V 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 ori V 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。lacZΔM15 标记的存在使 EPI300 可用于蓝白斑筛选, 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。