

EPI300 感受态细胞

EPI300 Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G2009

保存条件: -80℃

产品规格: 10×100μl 50×100μl

产品介绍

基 因 型

F⁻ mcrA Δ(mrr-hsdRMS-mcrBC) ϕ 80dlacZΔM15 Δ
lacX74 recA1 endA1 araD139 Δ(ara,leu)7697 galU galK λ⁻
rpsL nupG trfA dhfr

简 要 说 明

MLBioEPI300 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。**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 $3 \times 10^8 \text{cfu}/\mu\text{g DNA}$ 。

操 作 说 明

1. EPI300 感受态细胞从 -80℃ 拿出，迅速插入冰中，5 分钟后待菌块融化，加入目的 DNA（质粒或连接产物）并用手拨打 EP 管底混匀，冰中静置 25 分钟。
2. 42℃ 水浴热激 45 秒，迅速放回冰上并静置 2 分钟，晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μl 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB)，混匀后 37℃，200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌，留取 100 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。

5.将平板倒置放于 37℃培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作，将平板放 37℃培养至少 15 h。

注 意 事 项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化。插入冰中 8 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. 混入目的 DNA 时，应轻柔操作 感受态细胞最好在冰上融化。