



EPI300 感受态细胞

EPI300 Chemically Competent Cell

基因型:

F – mcrA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) ϕ 80dlacZ Δ M15

Δ lacX74 recA1 endA1 araD139 Δ (ara,leu)7697 galU galK λ – rpsL nupG trfA dhfr

基本信息:

产品规格: 10 支 100ul

平台编号: bio-109553

产品信息: 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。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。

保存条件: -80°C

操作说明:

1. EPI300 感受态细胞从 -80°C 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°C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰中并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μ l 不含抗生素的 LB 无菌培养液, 37°C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 留取 100 μ l 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°C 培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作, 将平板放 37°C 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。