

EPI400 Chemically Competent Cell

#CS12010	10×100ul
# CS12020	20×100ul

贮存 -80°C

概述: EPI400 来源于 EC100 菌株, 将一个诱导启动子驱动的 *pcnB* 基因替换掉 EC100 核基因中控制质粒拷贝数的 *pcnB* 基因, 即是 EPI100 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, 在加入诱导剂-CopyCutter Induction Solution 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。*lacZ* Δ M15 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。经 PUC19 质粒检测转化效率可达 5×10^7 cfu/ μ g DNA。

基因型:

F- *mcrA* Δ (*mrr-hsdRMS-mcrBC*) Φ 80d*lacZ* Δ M15 Δ *lacX74* *recA1* *endA1* *araD139* Δ (*ara*, *leu*)7697 *galU* *galK* λ -*rpsL* (Str^R) *nupG* *trfA* *tonA* *pcnB4* *dhfr*

操作方法

- EPI400 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) 并用枪轻轻吹打混匀, 冰中静置 25 分钟。
- 42°C 水浴热激 90 秒, 迅速放回冰上并静置 5 分钟。
- 向离心管中加入 500 μ L 不含抗生素的无菌培养基 (SOC 或 LB 培养基), 混匀后 37°C, 200rpm 复苏 60 分钟。
- 3000rpm 瞬时离心收菌, 留取 100 μ L 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含所选质粒筛选抗生素的 LB 培养基上。
- 待平板正置培养 30min 后, 再将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。

注意事项

- 感受态细胞最好在冰中缓慢融化, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。
- 混入质粒时应轻柔操作。
- 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。