

# JM109 Chemically Competent Cell

#CS12010	10×100ul
# CS12020	20×100ul

贮存 -80°C 6个月

**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*, $\Delta$ (*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* $\Delta$ 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  $5 \times 10^7$  cfu/ $\mu$ g DNA。

## 基因型：

F- *mcrA*  $\Delta$ (*mrr*-*hsdRMS*-*mcrBC*) $\Phi$ 80d*lacZ* $\Delta$ M15  $\Delta$ *lacX74* *recA1* *endA1* *araD139*  $\Delta$ (*ara*, *leu*)7697 *galU* *galK*  $\lambda$ -*rpsL* (Str<sup>R</sup>) *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 $\mu$ 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 $\mu$ 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。