



# EPI300 电转感受态细胞

## EPI300 Electroporation Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1032D

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1032D-1	EPI300 电转感受态细胞	5×50μl
<input type="checkbox"/> ZC1032D-2	EPI300 电转感受态细胞	20×50μl

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°C 保存六个月。

### 产品介绍:

本公司生产的 EPI300 电转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 的电转化。使用 pUC19 质粒检测, 转化效率  $10^{10}$  cfu/μg DNA 以上。

基因型为: F<sup>-</sup> 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。

### 操作方法:

1. 0.1cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5min, 待其沥干水分, 正置 5min, 使乙醇充分挥发, 待乙醇挥发干净立即插入冰中, 压实冰面, 电极杯顶离冰面 0.5cm 以方便盖上杯盖, 冰中静置 5min 充分降温。

2. 取 -70°C 保存的电击感受态细胞插入冰中 5min, 待其融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打离心管底轻轻混匀, 避免产生气泡, 立即插入冰中。

A. 测定转化效率使用 1μl 0.1ng/μl 的对照质粒 pUC19;

B. 对于连接产物, 请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液 (10mM Tris-HCl, pH7.5; 1mM EDTA) 重悬, DNA 浓度不超过 100ng/μl, 体积不超过 5μl/50μl 感受态。

3. 用 200μl 枪头将感受态 -DNA 混合物快速移到电击杯中, 避免产生气泡, 盖上杯盖。

4. 启动电转仪, 设置参数: C=25μF, PC=200Ω, V=1.8kV (BioRad 电转仪推荐参数); 或 C=25μF, PC=200Ω, V=2.4kV (BTX ECM 630 或 Bio-Rad GenePulser 电转仪推荐参数); 也可按所用电转仪推荐的参数操作。将电击杯快速放入电转槽中, 电击完成快速插入冰中。



5. 2min 后从冰中取出电击杯, 放室温, 加入 700 $\mu$ l 不含抗生素的无菌 S.O.C. 培养基(室温), 用 1ml 枪吹吸电击杯底部数次混匀后, 转移到 50ml 离心管(BD Falcon 50ml 锥形离心管等), 向离心管中补加 S.O.C. 培养基至 5ml. 37 $^{\circ}$ C, 225rpm 复苏 60min。

6. 5000rpm 离心 1min 收菌, 重悬后取 100-200 $\mu$ l 涂布到含相应抗生素的 S.O.C 平板上(因菌量较大, 若全部涂板请选用直径 15cm 培养皿 2-5 个)。将平板倒置放于 37 $^{\circ}$ C 培养箱过夜培养 13-17h。

## 注意事项:

1. 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 电击感受态细胞加入电击杯应避免产生气泡, 气泡会增加弧光放电风险。
3. DNA 加入到细胞中后, 立即进行电击操作; 电击完成后立刻加上 LB 或 SOC 等复苏培养基, 每分钟延迟加入会导致 3 倍转化效率的降低。
4. 电击杯里的离子可增加溶液的电导增大在含有细胞和 DNA 的溶液中产生电流和弧光放电的风险。
5. 当 DNA 不纯或存在盐, 乙醇, 蛋白及缓冲液等污染时, 转化效率急剧下降。
6. 若转化大质粒或想获得较高转化效率, 推荐使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒。质粒增大一倍, 转化效率下降一个数量级。
7. 对于连接产物转化, 最好转化前乙醇沉淀 DNA 后用适量 TE 缓冲液 (10mM Tris HCl, pH7.5; 1mM EDTA) 重悬产物, 保证 DNA 浓度不超过 100ng/ $\mu$ l。过高浓度连接产物或过大体积连接产物会降低转化效率, 增加弧光放电的风险。
8. 混入质粒时应轻柔操作, 吸取感受态细胞时不可用孔径过小的枪头 (普通 200 $\mu$ l 枪头应剪去枪头尖 0.6cm) 避免用力过猛, 以免剪切力过大损伤细胞膜, 降低转化效率。转化高浓度的质粒或连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
9. 电击感受态细胞最好保存在 -70 $^{\circ}$ C 以下, 高于 -70 $^{\circ}$ C 超期储存会导致转化效率下降。

# ZOMANBIO