

ER2925 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL3110)

ER2925 Competent Cell	100μl /支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件:	-80°C

● 基因型

F-ara-14 leuB6 fhuA31 lacY1 tsx78 glnV44 galkK2 galT22 mcrA dcm-6 hisG4 rfbD1 R(zgb210::Tn10)TetS endA1 rpsL136 dam13::Tn9 xylA-5 mtl-1 thi-1 mcrB1 hsdR2

● 产品说明

ER2925 菌株具有氯霉素抗性(Tn9)和硫酸链霉素(*rpsL136*)抗性, 是甲基转移酶 *dam*、*dcm* 缺失的 K12 菌株, 提取得到的质粒 DNA 可被对 *dam*、*dcm* 甲基化敏感的内切酶切割; 甲基转移酶 *dam*、*dcm* 突变导致细胞内基因突变率增加, 菌落生长时会产生大小两种菌落, 挑菌时尽量挑中等大小或偏小的菌落。无 *lacIqlacZΔM15*, 不可进行蓝白斑筛选。*endA1* 为突变型, 去除了非特异性核酸内切酶(*endA1*)的活性, 可获得最高质量的质粒。ER2925 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 > 1 × 10⁸ cfu/ μg DNA。

● 操作方法

1. ER2925 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 管底轻轻混匀(避免用枪吸打), 冰中静置 25 分钟。
2. 42°C 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 (SOC 或 LB), 混匀后 37°C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体, 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°C 培养箱过夜培养。

● 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。混入目的 DNA 时应轻柔操作, 转化高浓度质粒或连接产物可相应减少用于涂板的菌量。
2. ER2925 感受态转化效率较高, 对 DNA 甲基化有特殊要求的试验可用 ER2925 代替 JM110 使用。
3. ER2925 菌株具有氯霉素、链霉素抗性, 不能用于具有氯霉素或链霉素抗性质粒的转化。
4. 若要获得大量, 高纯度质粒, 建议在 TB 培养基 (唯地 CAT#: CM1018L) 中摇菌培养 (以标准质粒 PUC19 为例: 在 TB 营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为 LB 的 3-4 倍, SOC 的 2 倍)