

EPI300 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL1084)

EPI300 Competent Cell	100μl
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件 (保质期):	-80°C (6 个月)

● 基因型

F - *mcrA* Δ(*mrr-hsdRMS-mcrBC*) *φ80dlacZ*ΔM15 Δ*lacX74 recA1 endA1 araD139* Δ(*ara,leu*)7697 *galJ galK* λ - *rpsL nupG trfA dhfr*.

● 产品说明

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。[*mcrA*Δ(*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*ΔM15 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 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 > 3 × 10⁸ cfu/μg DNA。

● 操作方法

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 (2YT 或 LB), 混匀后 37°C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 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。如果进行蓝白斑筛选操作, 将平板放 37°C 培养至少 15 h。

● WDEPI-诱导剂使用方法

为了克隆毒性基因, EPI300 菌株通过改造 *pcnB* 基因 (控制质粒拷贝数的关键基因), 在未诱导条件下可显著降低质粒拷贝数, 减弱基因毒性, 使 EPI300 细胞可以稳定维持含毒性基因或不稳定 DNA 片段的质粒; 在需要提

取质粒时，通过在培养基中添加诱导剂，可以快速诱导质粒至高拷贝状态，实现“低拷贝稳定保存、高拷贝大量提取”的灵活调控，质粒产量可比未诱导时提高 10-100 倍。EPI300、EPI400、IPC100、IPC200 这四个菌株克隆毒性基因的原理类似，使用相同的诱导剂进行诱导，与其对应的是 WDEPI-诱导剂系列。

唯地生物开发了三种 WDEPI-诱导剂，分别是 WDEPI-诱导剂 I (货号: DL1105)、WDEPI-诱导剂 II (货号: DL1106)、WDEPI-诱导剂 III (货号: DL1107)，WDEPI-诱导剂 II 是 WDEPI-诱导剂 I 的优化版本，质粒产量比诱导剂 I 的诱导效果提高 1-2 倍；诱导剂 III 为诱导剂 II 的优化版本，质粒产量比诱导剂 II 的诱导效果再提高 30%，使用方法略有不同，参考各诱导剂说明书使用。

● 注意事项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化。插入冰中 10 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。

2nd LabTM
For a Better Lab