

WM3064 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL2012)

WM3064 Competent Cell	100μl /支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件 (保质期):	-80°C (6 个月)

● 基因型

thrB1004 pro thi rpsL hsdS lacZ Δ M15 RP4-1360 Δ (araBAD)567 Δ dapA1341::erm pir(wt)

● 产品说明

WM3064 菌株是专用的接合菌株，染色体中整合了 RP4 接合转移全套 *tra* 操纵子，可高效转移携带 *oriT* 的质粒，无需辅助菌即可完成双亲接合，促进目标质粒在接合菌株之间转移。同时 WM3064 菌株基因组中 *dapA* 基因被突变，无法自主合成 DAP（一种细胞壁合成必需的前体物质），因此，WM3064 在常规 LB 培养基中无法独立存活，必须依赖外源 DAP 补充或与其他菌株共生。在基因工程中，WM3064 常被设计为供体菌，与受体菌（如根瘤菌、假单胞菌、弧菌、放线菌、蓝藻等难转化革兰氏阴性菌递送 *oriT* 质粒）进行 DNA 传递，通过短暂的 DAP 供应窗口完成质粒转移后自然消亡，避免污染风险。WM3064 菌株可做蓝白斑筛选，具有链霉素抗性。唯地生物生产的 WM3064 感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒（2686bp, Amp^R）检测转化效率>10⁸ cfu/μg DNA。

● 操作方法

附言：所有培养 WM3064 的液体、固体培养基**必须添加 DAP**。DAP 推荐终浓度：300 μM。DAP 配制：用水配 100 mM 母液，0.22 μm 过滤除菌，不可高压灭菌，-20°C 避光分装保存。

1. WM3064 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 (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 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养 (16-20 h)。

● 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，长时间存放会降低转化效率。
2. 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
3. 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）