

### BW25113 Chemically Competent Cell 产品说明书

#### ● 产品规格 (CAT#: DL2050)

BW25113 Competent Cell	100 $\mu$ l /支
pUC19 (control vector, 10pg/ $\mu$ l)	10 $\mu$ l
保存条件 (保质期):	-80 $^{\circ}$ C (6个月)

#### ● 基因型

F<sup>-</sup>, DE(*araD-araB*)567, *lacZ*4787(*del*)::*rmbB*-3, LAM<sup>-</sup>, *rph*-1, DE(*rhaD-rhaB*)568, *hsdR*514

#### ● 产品说明

BW25113 菌株来源于 E. coli K-12 W1485, 是 K12 的衍生菌株, 与 MG1655 类似, 也是一种经过较少改造, 比较接近于“野生型”的大肠杆菌工程菌株。BW25113 作为母系菌株, 可以用来制作 E. coli Keio Knockout 文库; 同时可作为大肠杆菌模式菌株使用, 用来制作各种基因的 Knockout 突变体。另外, BW25113 可用于构建, 扩提质粒使用, 不含核酸酶 *endA1* 突变, 体内核酸酶含量较高, 提取质粒时务必使用质粒提取试剂盒中去蛋白液尽量去除核酸酶, 以防提取的质粒被降解。pUC19 质粒 (2686bp, Amp<sup>R</sup>) 检测转化效率 > 0.5  $\times$  10<sup>9</sup> cfu/ $\mu$ g DNA。

#### ● 操作方法

1. BW25113 感受态细胞从 -80 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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  $\mu$ l 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB), 混匀后 37 $^{\circ}$ C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体, 留取 100  $\mu$ l 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 $^{\circ}$ 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。
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)