

IPC200 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL1088)

IPC200 Competent Cell	100μl
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
质粒复制抑制剂 I	2ml
保存条件 (保质期):	-80°C (6 个月)

● 基因型

F⁻ hsdR(rK- mK+) Φ80*lacZ*Δ*M15* Δ*lacX74* *recA1* *endA1* *araD139* Δ(*ara, leu*)7697 *galU* *galK* λ: *nupG* *trfA* *tonA* *pcnB4* *dhfr*

● 产品说明

IPC200 是唯地生物开发的用于克隆毒性基因的大肠杆菌。EPI400 菌株可以降低质粒的拷贝数，特别适合于各种不稳定 DNA 或毒性基因的克隆，但是 EPI400 感受态的转化效率很低，这限制了 EPI400 的使用。IPC200 来源于 EPI400 菌株，将 EPI400 核基因中控制 DNA 甲基化和限制性修饰的三个关键限制性修饰系统进行精细化突变，并对菌株的基因组背景进行优化，同时删除链霉素抗性基因，修改 *pcnB* 基因的启动子，获得的菌株命名为 IPC200。IPC200 最大的优点是转化效率比 *epi400* 提高约 22 倍，极大提高载体构建成功率。*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*Δ*M15* 标记的存在使 IPC200 可用于蓝白斑筛选，*tonA* 赋予其抗噬菌体 T1 和 T5 的能力。IPC200 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 × 10⁹ cfu/μg DNA。

● 操作方法

1. IPC200 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。

● 克隆强毒性基因的解决办法

1. IPC200 的未诱导时的质粒拷贝数比 EPI400 略高，为了降低 IPC200 的本底质粒拷贝数，减弱基因毒性，可以在倒平板的培养基中加入质粒复制抑制剂 I (货号: DL1303)。

2. 若克隆的基因毒性强，为了减弱基因毒性，可以在倒平板的培养基中加入质粒复制抑制剂 I (货号: DL1303)，若毒性过强，可将质粒复制抑制剂 I 的使用浓度提高一倍，即按培养基体积 2% 的比例加入培养基中。
3. 质粒复制抑制剂 I 的使用方法：质粒复制抑制剂 I 为 100 倍母液，使用时，将其按培养基体积 1% 的比例加入培养基中即可，固体、液体培养基均可使用，但因其与 WDEPI-诱导剂拮抗，不能与 WDEPI-诱导剂同时添加。

● WDEPI-诱导剂使用方法

为了克隆毒性基因，IPC200 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 IPC200 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。
2. 质粒复制抑制剂 I 与 WDEPI-诱导剂拮抗，不能与 WDEPI-诱导剂同时添加。