

WD026 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL5001)

WD026 Competent Cell	100μl /支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件:	-80℃

● 基因型

F' [traD36 proAB lacIqlacZ Δ M15] *endA gyrA96 dam dcm rpsL thi-1 relA1 glnV44 Δ(lac-proAB) hsdR17 (rK- mK+)*

● 产品说明

WD026 来源于 JM108 和 JM110 菌株, 集合了两个菌株的优点。WD026 菌株缺失核酸内切酶 (*endA*), 提高了质粒 DNA 的产量和质量; 超螺旋质粒比例较高, 超螺旋质粒所占比例一般>90%(*gyrA96* 突变型说明 WD026 菌株的 DNA *gyrase* 基因被突变, 导致拓扑异构酶 II 的功能受影响, 增加了超螺旋质粒的比例), 非常适合后续的动物细胞转染实验 (超螺旋质粒可提高细胞转染的效率)。WD026 是甲基转移酶 *dam*、*dcm* 缺失的菌株, 提取得到的质粒 DNA 的 GATC 位点无腺嘌呤甲基化; CCAGG/CCTGG 位点无胞嘧啶甲基化, 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。lacIqlacZΔM15 的存在使 WD026 可以进行蓝白斑筛选, 此外该菌株具有链霉素抗性。唯地生物开发的 WD026 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. WD026 感受态细胞从-80℃拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的质粒并用手拨打 EP 管底混匀, 冰中静置 25 分钟。
2. 42℃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℃, 200 rpm 复苏 70 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体, 留取 50 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的培养基上。
5. 将平板倒置放于 37℃培养箱至少 15 小时。

● 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. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。因缺失 *dam*、*dcm* 甲基转移酶, WD026 一般只用于质粒转化, 质粒扩繁, 不用于转化连接产物, 构建载体。
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)