

# W3110感受态细胞

## ■ 产品简介

W3110 是 K-12 的衍生菌株，消除了 F 和 lambda，是一种经过较少改造，比较接近于 WT-野生型的大肠杆菌工程菌株。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。经 pUC19 质粒转化检测，W3110 感受态细胞的转化效率可达  $10^8$  cfu/ $\mu$ g DNA。

## ■ 产品组成

组分	KW-96148
W3110 化学感受态	10×100 $\mu$ L

基因型: F- *lambda*- *IN(rrnD-rrnE)1 rph-1*

## ■ 存储条件

-80°C 保存；请勿将本品置于 -20°C 或者液氮中保存！

## ■ 使用方法

- 解冻感受态细胞：**从 -80 °C 取感受态细胞，放置在冰浴或冰水浴中融化，约 5-10 min，放置时间过长会影响转化效率。
- DNA 样品的转化：**每 100  $\mu$ L 感受态加入待转化 DNA 样品(例如质粒、连接产物或重组产物等) 约 10  $\mu$ L，然后轻轻弹击管底约 2-3 次，立即冰上静置孵育 30 min。
  - 加入待转化 DNA 样品体积通常不宜超过感受态细胞体积的 10%。
  - 加入待转化 DNA 样品后应轻柔操作，避免使用移液枪吹打混匀。
  - 如果用于质粒的转化扩增，冰浴静置约 10 min 后可以直接涂板并培养过夜；如果用于连接产物或重组产物的转化，建议冰浴静置 30 分钟并严格执行后续的热激处理和复苏培养等步骤，以提高转化效率。
- 热激处理：**将冰浴后的离心管快速置于 42°C 水浴中，静置热激 90 s。随后立即转移至冰水浴中静置 2-3 min 以快速冷却。
  - 热激及转移至冰浴过程中请勿晃动离心管。
- 复苏培养：**加入 900  $\mu$ L 37 °C 预热的 LB 或 SOC 培养基，颠倒数次混匀，37°C 摇床约 220 rpm 复苏培养 45 min。
- 收菌涂板：**如果用于质粒的转化扩增，建议直接取 50-100  $\mu$ L 进行涂板即可；如果用于连接产物或重组产物的转化，建议先 5000 g，1 min 室温离心沉淀细菌，吸除约 900-950  $\mu$ L 上清，然后

用剩余的约 50-100  $\mu\text{L}$  菌液重悬，涂布到含相应抗生素的 LB 平板上。

6. **过夜培养：**将平板倒置放于 37°C 培养箱培养过夜。

◆ 培养前需要将平板在超净台中稍微晾至无明显水渍，有利于形成单克隆。

## ■ 注意事项

1. 感受态细胞冰水浴中解冻后应立即使用；
2. 加入的待转化 DNA 的总体积不应超过感受态细胞体积的 1/10；
3. 加入待转化 DNA 后，不要用移液器吹吸感受态细胞，仅用手指轻弹即可；
4. 为确保更高转化效率，整个操作过程中除热激外均要保持低温，并且要尽量轻柔。