

## M5 HiPer Universal W5 Competent Cell W5 感受态细胞（超快、广谱）使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer Universal W5 Competent Cell	50 $\mu$ l $\times$ 10 支	MF777-T-10
M5 HiPer Universal W5 Competent Cell	100 $\mu$ l $\times$ 10 支	MF777-10
M5 HiPer Universal W5 Competent Cell	100 $\mu$ l $\times$ 20 支	MF777-20
M5 HiPer Universal W5 Competent Cell	100 $\mu$ l $\times$ 50 支	MF777-50
M5 HiPer Universal W5 Competent Cell	100 $\mu$ l $\times$ 100 支	MF777-100

### 【储存条件】

-80 $^{\circ}$ C 恒温保存，避免反复冻融，有效期六个月；干冰运输。

### 【产品简介】

Universal W5 Competent Cell 的 W5 菌株由野生型 non-K-12 E. Coli W 菌株改造而来，是目前生长速度最快的感受态细胞之一，在平板上 8h 可见克隆，而常用的 DH5  $\alpha$ ，TOP10 等感受态细胞要 12h 以上；缺失核酸内切酶(endA)，提高了质粒 DNA 的产量和质量；重组酶缺陷型(recA1398)减少插入片段的同源重组概率，保证了插入 DNA 的稳定性；lacZ  $\Delta$  M15 的存在使 W5 感受态可用于蓝、白斑筛选；以上特点与 DH5  $\alpha$ ，TOP10 等感受态细胞一致。tonA 突变赋予 W5 菌株对噬菌体 T1 和 T5 的抗性，这是 DH5  $\alpha$ ，TOP10 等感受态细胞不具备的优势。W5 感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率可达 10<sup>9</sup>cfu/ $\mu$ g DNA，而 DH5  $\alpha$ ，TOP10 等感受态细胞的转化效率只有 10<sup>8</sup>cfu/ $\mu$ g 左右。-70  $^{\circ}$ C 保存几个月转化效率不发生改变。

### 【基因型】

F-  $\phi$ 80、(lacZ)  $\Delta$  M15、 $\Delta$  lacX74、hsdR(rK- mK+)、 $\Delta$  recA1398、endA1、tonA

### 【标准使用方法】

按照无菌操作规程进行下列操作步骤：

- 取感受态细胞置于冰浴中融化，待完全化冻后轻轻混匀。如需分装，可将融化的细胞悬液转移到无菌、预冷的离心管中，置于冰浴中备用。混匀、分装时动作应轻缓，以防细胞破裂。
- 向 50~100 $\mu$ l 细胞悬液中加入目的 DNA，轻轻混匀，冰浴中放置 30 分钟。  
注意：加入 DNA 的体积以不超过感受态细胞体积的十分之一为宜。
- 将离心管转移至 42 $^{\circ}$ C 水浴中热激 60~90 秒，然后快速将离心管转移到冰浴中冷却 2 分钟。该过程不要摇动离心管。
- 向离心管中加入 500~900 $\mu$ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基（不含抗生素），混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 200 rpm 左右振荡培养 45~60 分钟，使菌体复苏并表达质粒上的抗生素抗性基因。
- 根据实验要求，取适量转化后的菌液加到含相应抗生素的 LB 固体琼脂培养基上，将细胞均匀涂开。待液体被完全吸收后，37 $^{\circ}$ C 倒置培养约 8-10 小时。

注意：涂布量的选择应根据目的 DNA 的性质和浓度适当进行调整，通常可按下述方法涂布：

- 目的质粒 DNA 在 1 ng 左右时， $\phi$ 90 mm 平皿可涂布 100 $\mu$ l， $\phi$ 55 mm 平皿可涂布 50 $\mu$ l；目的质粒浓度较高时，应相应减少涂布量。
- 连接产物的转化菌液可通过 4,000 rpm 离心 1~2 分钟后，吸除大部分上清，用剩余的 100~200 $\mu$ l 上清重悬菌体，涂布于同一块琼脂平板上。

### 【注意事项】

- 融化后的感受态细胞应及时进行转化，以免降低转化效率；融化后不宜再次冻结保存。操作轻柔，避免移液枪吹吸。
- 请使用传热性能好的薄壁试管或离心管，换用不同的试管或离心管时，应摸索热激时间，以获得最佳转化效率。
- 请保留剩余的连接反应液，以便在转化实验不成功时重新进行转化。
- 经验表明，使用 SOC 培养基复苏比使用 LB 培养基复苏的转化效率高约一倍以上。

### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。