

E.coli Electro-Cells JM109

使用说明书

TaKaRa Code : D9022

包 装 量

Electro-Cells JM109	50 μ l	$\times$ 10 支
Control DNA (pUC19 , 0.01 ng/ μ l)	10 μ l	$\times$ 1 支

保 存 : -80°C

制品说明

用高电压脉冲电流瞬间击穿大肠杆菌，从而使外源DNA转入大肠杆菌内的转化方法称为电穿孔法。电穿孔法是各种转化方法中效率最佳的方法之一，比经Ca²⁺处理而获得的感受态细胞的转化效率高。在制作基因文库、进行亚克隆时，尤其在转化少量DNA时，特别能发挥其威力。

Genotype

recA1 , *endA1* , *gyrA96* , *thi-1* , *hsdR17* , *supE44* , *relA1* , Δ (*lac-proAB*)/F' [*traD36* , *proAB*⁺ , *lac*⁺ , *lacZ*^ΔM15]

细胞种类

α -互补性选择宿主 *E.coli* JM109
E.coli JM109在使用pUC系列质粒载体进行DNA转化或用M13 Phage载体进行转染时，由载体DNA产生的*LacZ* α 多肽和由JM109 F'编码的*lacZ*^ΔM15产生的 ω Fragment结合，表现出 β -半乳糖苷酶活性 (α -互补性)。利用这一特性，可以很容易鉴别重组体菌株。携带有F'质粒的*E.coli* Competent Cells JM109，除可用于制作基因文库、进行亚克隆等之外，也可作为M13 phage载体DNA的宿主菌，制备单链DNA。

细胞浓度 : 1 ~ 2 $\times$ 10¹⁰ Bacteria/ml

质量标准

- 使用 10 pg 的质粒 DNA 进行转化时 :
50 μ l *E.coli* Electro-Cells JM109/10 pg pUC19 Plasmid > 1 $\times$ 10⁹ transformants/ μ g pUC19 Plasmid。
- F'质粒的稳定性检测
对 *E.coli* Electro-Cells JM109 使用 pUC19 DNA 进行电穿孔法转化后，在含有 100 μ g/ml 的 Ampicillin、0.2 mM 的 IPTG、40 μ g/ml 的 X-Gal 的 L-琼脂平板培养基上，产生的白色菌落在 1% 以下。
- 50 μ l 的 *E.coli* Electro-Cells JM109 在含有 100 μ g/ml Ampicillin 的 L-琼脂平板培养基上过夜培养 40 hr 不产生菌落。

使用方法

质粒 DNA 的转化方法

- Electro-Cell (50 μ l) 使用前在冰中融化。
- 在融化的 Electro-Cell 中加入 1 ~ 2 μ l DNA 溶液 (当 DNA 溶液中有盐存在时用乙醇沉淀脱盐)。
- 将 Electro-Cell 及 DNA 混合液注入到冰中预冷的 0.1 cm 冲击槽内 (Cuvette)。
- 1.5 KV 电压冲击后，迅速置于冰中冷却，加入 1 ml SOC 培养基。
- 37°C 振荡培养 1 小时 (160 ~ 225 rpm)。
- 取适量涂布琼脂平板培养基。
- 37°C 过夜培养。

M13 phage 载体 DNA 的转染方法

- 与质粒 DNA 的转化方法 1. ~ 5. 操作方法相同。
- 在 3.5 ml 的 YT-soft agar (预先 46°C ~ 48°C 保温) 中，加入 200 μ l 的宿主菌 (*E.coli* JM109 , A₆₀₀=0.8 ~ 1.0)。
- 取适量 1. 与 2. 混合，迅速铺于 L-plate 上。
- 平板置于室温放置 10 ~ 15 分钟后，37°C 过夜培养。

注意事项

- 一定要用干冰运输。
- 不立即使用的 Electro-Cell 请在 -80°C 保存 (融化后的 Electro-Cell 不能再冻结保存)。
- 导入分子量较大的 DNA (> 7 kbp) 时，转化效率稍低。
- 使用 SOC 培养基的地方也可使用 LB 培养基，但转化效率会有所下降。
- 包装中附有 0.01 ng/ μ l 的 pUC 19 DNA，供作对照实验使用。
- 50 μ l 的电转化细胞中，转化的质粒 DNA 量不能超过 10 ng，否则效率会下降。

备 注

SOC 培养基的组成	
2%	Bacto tryptone
0.5%	Bacto yeast extract
10 mM	NaCl
2.5 mM	KCl
10 mM	MgSO ₄
10 mM	MgCl ₂
20 mM	Glucose