

# *E. coli* Competent Cells BMH71-18 *mutS*

## 使用说明书

Takara Code : D9054

### 包装量

Competent Cells BMH71-18 <i>mutS</i>	100 $\mu$ l	$\times$	10 支
Control DNA ( pUC119, 0.1 ng/ $\mu$ l )	10 $\mu$ l	$\times$	1 支

保存 : -80°C

### 制品说明

大肠杆菌经Ca离子处理后可摄取外源DNA( Plasmid, Phage DNA ), 处于这种状态的细胞称作感受态细胞 ( Competent Cells )。在进行基因重组实验时, 使用感受态细胞的转化实验应用十分广泛。制作基因文库、重组质粒体以及进行亚克隆实验时, 特别是在目的基因含量十分低的情况时, 使用高效的感受态细胞十分重要。Takara公司在Hanahan方法的基础上进行了改良, 制备出了高效的感受态细胞 ( 都为EK1系列的宿主大肠杆菌 )。

### Genotype

$\Delta$ ( *lac-proAB* ), *thi-1*, *supE*, *mutS* 215::Tn10 ( *tetr* ) / F *traD* 36, *proAB*<sup>+</sup>, *lacI*<sup>h</sup>, *lacZ* $\Delta$ M15

### 细胞种类

错配序列修复能力缺陷宿主 *E. coli* BMH71-18 *mutS*  
*E. coli* BMH71-18 *mutS* 是 *mutS* 变异的菌株, DNA错配序列修复能力缺陷。利用点突变进行基因改造时, 选用本宿主可以保持突变的DNA不被修复, 这对于基因改造是有利的。本宿主含有F'质粒, 也可作为M13 phage载体DNA的宿主菌, 制备单链DNA。此外, 本宿主在使用pUC系列质粒载体或M13 phage载体进行转化或转染时, 具有 $\alpha$ -互补性, 可以进行蓝白筛选。

细胞浓度 : 1 ~ 2 $\times$ 10<sup>9</sup> Bacteria/ml

### 质量标准

- 使用 1 ng 的质粒 DNA 进行转化时 :  
100  $\mu$ l Competent Cells BMH71-18 *mutS* / 1 ng pUC119 Plasmid 进行转化时产生的菌落数 > 1 $\times$ 10<sup>7</sup> transformants/ $\mu$ g pUC119 Plasmid。
- 100  $\mu$ l 的 *E. coli* Competent Cells BMH71-18 *mutS* 在含有 100  $\mu$ g/ml 的 Ampicillin 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

- 把感受态细胞置于冰中融化。
- 把 100  $\mu$ l 的感受态细胞移至灭菌处理的试管内。
- 加入用于转化的 DNA ( 10 ng 以下 )。
- 冰中放置 30 分钟。
- 42°C 放置 45 ~ 60 秒。
- 冰中放置 2 ~ 3 分钟。
- 加入 37°C 预温好的 SOC 培养基, 使终体积为 1 ml。
- 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. ~ 8. 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  $\mu$ l 的宿主菌 ( *E. coli* BMH71-18 *mutS*, A<sub>600</sub>=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。
- 不立即使用的感受态细胞请在 -80°C 下保存 ( 融化后的感受态细胞不能再冻结保存 )。
- 转化时请使用传热性能较好的试管。一般的 1.5 ml 微型离心管也可使用, 但转化效率会有所下降 ( 此时请在使用方法 5. 的 42°C 下放置 60 秒 )。
- 对 100  $\mu$ l 的感受态细胞, 用于转化的质粒 DNA 量请控制在 10 ng 以下, 并保证 DNA 溶液的体积在 20  $\mu$ l 以下。否则会影响转化效率。
- 使用 SOC 培养基的地方也可使用 LB 培养基, 但此时转化效率会有所下降。
- 包装中附有 0.1 ng/ $\mu$ l 的 pUC119 DNA, 供作对照实验使用。

### 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 <sub>4</sub>
10 mM	MgCl <sub>2</sub>
20 mM	Glucose