

E.coli Competent Cells JM109

使用说明书

TaKaRa Code : D9052

包装量

Competent Cells JM109	100 µl × 10 支
Control DNA (pUC19, 0.1 ng/µl)	10 µl × 1 支

保存 : -80°C

制品说明

感受态细胞 (Competent Cells) 是一种具有摄入外源DNA能力的受容菌, 它可以摄取外源的质粒DNA等。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。在制作基因文库、重组质粒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下, 使用高效的感受态细胞显得十分重要。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

E.coli JM109
recA1, *endA1*, *gyrA96*, *thi-1*, *hsdR17*, *e14-(mcrA)*, *supE44*,
relA1, $\Delta(lac-proAB)/F'$ [*traD36*, *proAB*⁺, *lac I^H*, *lacZ* Δ M15]

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* Δ M15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 : $1 \sim 2 \times 10^9$ Bacteria/ml

质量标准

- 使用 1 ng 的质粒 DNA 进行转化时 :
100 µl Competent Cells JM109/1 ng pUC19 Plasmid进行转化时产生的菌落 $> 1 \times 10^8$ transformants/1 µg pUC19 Plasmid
- F'质粒的稳定性检测
对 *E.coli* Competent Cells JM109 使用 pUC19 DNA 进行转化后, 在含有 100 µg/ml 的 Ampicillin、0.2 mM 的 IPTG、40 µg/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。
- 100 µl 的 *E.coli* Competent Cells JM109 在含有 100 µg/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*

- 把感受态细胞置于冰中融化。
- 把 100 µl 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。

* : 也可以使用以下快速转化方法, 但效率会有所下降。

- 取适量质粒加入到 microcentrifuge tubes 中, 冰上冷却 2 min。
- 取 100 µl 感受态细胞加入到上述 microcentrifuge tubes 中, 混匀并冰浴 5 min。
- 在含有 X-Gal、IPTG、Amp 的 L-琼脂平板培养基上培养 (平板使用前需要在 37°C 预热 30 分钟), 形成单菌落。计数白色、蓝色菌落。

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 µl 的宿主菌 (*E.coli* JM109, $A_{600} = 0.8 \sim 1.0$)。
- 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 µl 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 µl 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/µl 的 pUC19 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 ₄
10 mM	MgCl ₂
20 mM	Glucose

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. TaKaRa products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from TaKaRa Biotechnology (Dalian) Co., Ltd..