

# E.coli Competent Cells JM109

## 使用说明书

Takara Code : D9052A

### 包装量

Competent Cells JM109	100 $\mu$ l $\times$ 10 支
Control DNA ( pUC19, 0.1 ng/ $\mu$ l )	10 $\mu$ l $\times$ 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*<sup>+</sup>, *lac I<sup>H</sup>*, *lacZ* $\Delta$ M15]

### 细胞种类

$\alpha$ -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* $\alpha$  多肽和由 JM109 F' 编码的 *lacZ* $\Delta$ M15 产生的  $\omega$  Fragment 结合, 表现出  $\beta$ -半乳糖苷酶活性 (  $\alpha$ -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  $\mu$ l Competent Cells JM109/1 ng pUC19 Plasmid 进行转化时产生的菌落  $> 1 \times 10^8$  transformants/1  $\mu$ g 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  $\mu$ g/ml 的 Ampicillin、0.2 mM 的 IPTG、40  $\mu$ 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。
- 100  $\mu$ l 的 *E. coli* Competent Cells JM109 在含有 100  $\mu$ 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\*

- 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。

\* : 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  $\mu$ l 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  $\mu$ l 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  $\mu$ 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 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 <sub>4</sub>
10 mM	MgCl <sub>2</sub>
20 mM	Glucose