

Code No. 9022

研究用

Takara

E. coli JM109 Electro-Cells

说明书

目 录

| 内 容 | 页 码 |
|------------|-----|
| ● 制品说明 | 1 |
| ● 制品内容 | 1 |
| ● 保 存 | 1 |
| ● 使用方法 | 1 |
| ● 质量标准 | 2 |
| ● Genotype | 3 |
| ● 细胞浓度 | 3 |
| ● 参考文献 | 3 |
| ● 关联产品 | 3 |

● 制品说明

Electro-Cells 是 Takara Bio 特别制备的适用于电穿孔法的制品。用高电压脉冲电流瞬间击穿细胞的细胞质膜，从而使外源 DNA 转入宿主细胞内的转化方法称为电穿孔法。通过此种方法制备的感受态细胞转化效率高、产量大，尤其适合在短时间内将少量样品转入大肠杆菌内。

由于 *E. coli* JM109 Electro-Cells 含有 F' 质粒，可以作为 M13 噬菌体载体的宿主细胞，也可用于制作 DNA 文库或进行亚克隆。当转化 pUC 载体或转染 M13 噬菌体载体 DNA 时，重组体可以利用电转化细胞的 β -半乳糖苷酶的 α -互补性，通过添加 X-Gal 和 IPTG 很容易地筛选出来。

X-Gal : 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Galactoside

IPTG : Isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside

● 制品内容

| | |
|------------------------------------|------------------------|
| <i>E. coli</i> JM109 Electro-Cells | 50 μ l \times 10 |
| pUC19 plasmid (10 pg/ μ l) | 10 μ l |
| SOC Medium* | 1 ml \times 10 |

| | | |
|---------------|--------|-------------------|
| * SOC Medium: | 2% | Tryptone |
| | 0.5% | Yeast extract |
| | 10 mM | NaCl |
| | 2.5 mM | KCl |
| | 10 mM | MgSO ₄ |
| | 10 mM | MgCl ₂ |
| | 20 mM | Glucose |

● 保 存

-80°C

注意：-80°C或更低温度下保存。如果保存温度不能恒定，转化降低将会降低。请使用附带的 pUC19 对照质粒以确认保存细胞的转化效率。不能液氮保存。

● 使用方法

A. 转化质粒载体

1. *E. coli* JM109 Electro-Cell (50 μ l) 使用前在冰上融化。
2. 在融化的 Electro-Cell 中加入 1~2 μ l DNA 溶液*1。
3. 将 Electro-Cell 及 DNA 混合液注入到冰中预冷的 0.1 cm 电转杯内 (Cuvette)。
4. 电压冲击*2后，迅速置于冰中冷却，加入 1 ml SOC 培养基。
5. 37°C振荡培养 1 小时 (160~225 rpm)。
6. 取适量涂布选择培养基。直径 9 cm 的平板涂布不超过 100 μ l。
7. 37°C过夜培养。

*1: 当 DNA 溶液中有盐存在时，用 TE buffer 或灭菌水稀释，也可用乙醇沉淀脱盐 (建议<10 ng)。

*2: Takara Bio 使用 BIO-RAD MicroPulser，电压为 1.5 kV。当使用 BIO-RAD Gene Pulser 时，标准设置为 200 Ω ，25 μ F，1.5 kV。

B. M13 噬菌体载体转染

1. 与质粒 DNA 的转化方法 1.~4.操作方法相同。

2. 在 3 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)。
3. 取适量 1.与 2.混合, 迅速铺于 L-plate 上。
4. 平板置于室温放置 10~15 分钟后, 37°C过夜培养。

【注意事项】

1. 将 Electro-Cells 从-80°C取出后请立即置于干冰/乙醇中。使用前保存于干冰/乙醇中。
2. 当使用 50 μ l Electro-Cells 时, 添加不多于 10 ng 的高纯度样品 DNA。否则会降低转化效率。
3. 导入分子量较大的 DNA (>7 kb) 时, 转化效率降低。
4. 当改变实验规模时, 适当改变反应条件。
5. L-broth 或 ϕ b-broth 可代替 SOC 培养基。此时, 转化效率会降低。

| L-broth : Ingredient | per liter water |
|----------------------|-----------------|
| Tryptone | 10 g |
| Yeast extract | 5 g |
| NaCl | 5 g |

用 1 N NaOH 调整 pH7.5 并高压灭菌。

| ϕ b-broth: Ingredient | per liter water |
|---------------------------------------|-----------------|
| Tryptone | 20 g |
| Yeast extract | 5 g |
| MgSO ₄ · 7H ₂ O | 5 g |

用 1 N KOH 调整 pH7.5 并高压灭菌。

6. 稀释时, 使用“使用方法 4”中加入的 SOC 培养基。
7. YT soft agar: Ingredient per 100 ml water

| | |
|---------------|-------|
| Tryptone | 0.8 g |
| Yeast extract | 0.5 g |
| NaCl | 0.5 g |

用 1 N NaOH 调整 pH7.6, 添加 agar 至浓度为 0.6%, 高压灭菌。

8. 制备感受态细胞。当 DNA 插入 M13 噬菌体载体克隆位点时, 重组体可通过在 YT-soft agar 添加 X-Gal 和 IPTG 进行筛选, 因为非重组体存在于蓝斑中。
9. YT-plate: Ingredient per liter water

| | |
|---------------|-----|
| Tryptone | 8 g |
| Yeast extract | 5 g |
| NaCl | 5 g |

用 1 N NaOH 调整 pH7.6, 添加 agar 至浓度为 1.5%, 高压灭菌。

10. 当加入 X-Gal 或 IPTG 时, 按照以下方法操作:
 - 加入 100 mM IPTG, 100 μ l-300 μ l IPTG/100 ml agar medium 和 25 μ l IPTG /3 ml soft agar。
 - 加入 20 mg/ml X-Gal (溶解于二甲基甲酰胺) 到 agar medium 中, 比例为 200 μ l-300 μ l /100 ml。若使用 soft agar, 比例为 50 μ l /3 ml。
11. 不建议将解冻的 Electro-Cells 再次冷冻保存。但是, 如果再次冻结不可避免, 将细胞置于干冰/乙醇中快速冷冻, 置于-80°C保存。但是, 转化效率可能会降低至少一个数量级。

● 质量标准

转入 10 pg 的 pUC19, 涂于 Amp⁺ 选择培养基进行筛选。

转化效率: > 1 × 10⁹ cfu/ μ g pUC19

● Genotype

E. coli JM109: *recA1* , *endA1* , *gyrA96* , *thi-1* , *hsdR17 (rk-mk⁺)*, *e14 (mcrA⁻)* ,
supE44 , *relA1* , Δ (*lac-proAB*)/F⁺[*traD36* , *proAB⁺*, *lacI^q*, *lacZ* Δ M15]

● 细胞浓度

$>1 \times 10^{10}$ bacteria/ml

● 参考文献

1. Dower W J, Miller J F, and Ragsdale C W. *Nucl Acids Res.* (1988) **16**: 6127.
2. Bottger E C. *Biotechniques* . (1988) **6**: 878.

● 关联产品

E. coli JM109 Competent Cells (Code No. 9052)

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考 Takara Bio Inc.网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

技术咨询热线：

0411-87641685, 87641686

4006518761, 4006518769

TAKARA BIO INC.

URL: <https://www.takarabiomed.com.cn>

v202101Da