

Code No. 9052

研究用

TaKaRa

E. coli JM109
Competent Cells

说明书

目 录

内 容	页 码
● 制品内容	1
● 保 存	1
● 制品说明	1
● 使用方法	1
● 质量控制	2
● Genotype	3
● 细胞浓度	3
● 参考文献	3

● 制品内容

<i>E. coli</i> JM109 Competent Cells	100 μ l \times 10
pBR322 plasmid (0.1 ng/ 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：如果不在-80°C下保存，转化效率将会降低。此时，在使用前，请使用附带的 pBR322 对照质粒来确认细胞的转化效率。不能液氮保存。

● 制品说明

Takara 在 Hanahan's method 基础上进行了改良，制备出 *E. coli* JM109 Competent Cells。

由于 *E. coli* JM109 Competent 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，重组体可以利用感受态细胞的 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

● 使用方法

质粒载体转化

1. TaKaRa *E. coli* JM109 Competent Cells 使用前在冰上融化。
2. 轻微混合，将 100 μ l 细胞移入 14 ml 的圆底 tube 中 (BD Code: 352059 或 352057)。
注意：不能剧烈振荡混合细胞。
3. 加入 DNA 样品 (建议 \leq 10 ng)。
4. 冰中放置 30 分钟。
5. 42°C 放置 45 秒。
6. 冰中放置 1-2 分钟。
7. 添加 SOC 培养基 (预先在 37°C 保温) 至终体积 1 ml。
8. 37°C 振荡培养 1 小时 (160-225 rpm)。
9. 取适量涂于选择培养基*。
*：直径 9 cm 的平板上涂布量不超过 100 μ l。如果有需要，稀释培养液。
10. 37°C 过夜培养。

M13 噬菌体载体转导

1. 步骤 1-8 同上。
2. 在 3 ml 的 YT-soft agar (预先在 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. 将感受态细胞从 -80°C 冷冻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. 可使用 1.5 ml 的 microcentrifuge tubes 代替 14 ml 的圆底 tubes (BD Code: 352059 或 352057 等), 但效率可能会降低。
3. 当使用 100 μ l 感受态细胞时, 加入的高纯度 DNA 样品不超过 10 ng。否则转化效率会降低。
4. 当改变感受态细胞数量或 tubes 类型时, 适当调整反应条件。例如, 当使用 1.5 ml microcentrifuge tubes 时, 42°C 放置 60 秒, 而不是 45 秒。
5. L-broth 或 ϕ b-broth 可替代 SOC 培养基。此时, 转化效率可能会降低。

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

用 1 N NaOH 调整 pH 到 7.5 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 pH 到 7.5 并高压灭菌。

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 pH 到 7.6, 加入 agar 至浓度为 0.6%, 并高压灭菌。

7. 制备宿主细胞。

L-plate: Ingredient	per liter
Tryptone	10 g
Yeast extract	5 g
NaCl	5 g

用 1 N NaOH 调整 pH 到 7.5, 加入 agar 至浓度为 1.5%, 并高压灭菌。

9. 当加入 X-Gal 或 IPTG 时, 按照以下方法操作:

- 将 100 mM IPTG 按 100-300 μ l/100 ml 的比例加入到 agar medium 中, 若使用 soft agar, 比例为 25 μ l/3 ml。
- 将 20 mg/ml X-Gal (溶解于二甲基甲酰胺) 按 200-300 μ l/100 ml 的比例加入到 agar medium 中, 若使用 soft agar, 比例为 50 μ l/3 ml。

10. 不建议将解冻的感受态细胞再次冷冻保存。但是, 如果再次冻结不可避免, 将细胞置于干冰/乙醇中迅速冷冻后, 置于 -80°C 保存。但是, 转化效率可能会降低至少一个数量级。

● 质量控制

1. 转化效率

转入 1 ng 的 pBR322, 涂于含有 Amp^r 的选择培养基进行筛选。

转化效率: $>1 \times 10^8$ transformants/ μ g pBR322

2. F' 质粒稳定性

当转化质粒载体后，涂于含有 100 $\mu\text{g/ml}$ ampicilin, 0.3 mM IPTG 和 60 $\mu\text{g/ml}$ X-Gal 的 L-agar 培养基，出现少于 1% 的白色菌落。

● Genotype

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

● 细胞浓度

1–2 $\times 10^9$ bacteria/ml

● 参考文献

1. Hanahan D. *J Mol Biol.* (1983) **166**: 557.
2. Messing J. *Gene* . (1985) **33**: 103.

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.takara-bio.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>

v202003Da