

## JM109 感受态细胞说明书

### 产品组成

JM109 感受态细胞	10 支	20 支
Cat.No.	8303010	8303020
JM109 感受态细胞	100 $\mu$ l $\times$ 10 支	100 $\mu$ l $\times$ 20 支
Control DNA (pUC19, 0.1ng/ $\mu$ l)	10 $\mu$ l $\times$ 1 支	20 $\mu$ l $\times$ 1 支
说明书	1 份	1 份

### 产品储存

1. 感受态细胞必须用干冰运输, 融化后的感受态细胞不能再冻结储存。如果用户收到感受态细胞后发现泡沫箱中的干冰已经挥发殆尽, 应予以拒收。
2. 收到感受态细胞后应立即储存在-70 $^{\circ}$ C以下的冰箱中, 在 6 个月内使用不影响转化效率; 感受态细胞不可反复冻融, 不要与限制性内切酶等经常使用的分子生物学试剂放在一起, 避免因温度的波动而影响的效率。

### 技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部: E-mail:technical@simgen.cn, 电话: 400-0099-857。

### 产品介绍

本公司生产的 JM109 感受态细胞是采用大肠杆菌 JM109 菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用 DNA 的化学转化。经 pUC19 质粒检测, 转化效率可达 10<sup>8</sup>cfu/ $\mu$ g。每支感受态可以酌情分装使用, 降低了实验的成本。质量稳定, 使用方便, 质优价廉。

### JM109 菌株介绍

**基因型:** recA1, endA1, gyrA96, thi-1, hsdR17, supE44, relA1,  $\Delta$  (lac-proAB) /F' [traD36, proAB+, lacIq, lacZ  $\Delta$  M15]。

**特点:** 本菌株在使用 pUC 系列质粒载体进行 DNA 转化或用 M13 phage 载体进行转染时, 由于载体 DNA 产生的 LacZ $\alpha$  多肽和 JM09 编码的 LacZ  $\Delta$  M15 进行  $\alpha$ -互补, 从而显示  $\beta$ -半乳糖苷酶活性, 由此很容易鉴别重组体菌株。

### 质量标准

1. 使用 1 ng pUC19 Plasmid 质粒 DNA 转化 100  $\mu$ l Competent Cells DH5 $\alpha$ 测试, 产生的菌落数 >1 $\times$ 10<sup>8</sup> transformants/1 $\mu$ g pUC19 Plasmid。
2.  $\beta$ -半乳糖苷酶、 $\alpha$ -互补性的确认: 对 E.coli Competent Cells JM109 使用 pUC19 DNA 进行转化后, 在含有 100  $\mu$ g/ml 的 Ampicillin、40 $\mu$ g/ml 的 X-Gal 的 L-琼脂平板培养基上, 产生蓝色菌落。
3. 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。

### 用户需自备的试剂与物品

1. 试剂: LB 液体与固体培养基、抗生素。
2. 物品: 弯头玻棒铺菌器、碎冰、水浴锅、超净工作台、摇床、移液器与无菌枪头、无菌 1.5ml 离心管、台式少量离心机 (可配 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子)。
3. 筛选蓝白斑所需: X-gal、IPTG。

### 使用前准备

1. 感受态细胞从-80 $^{\circ}$ C取出立即置于冰上冻融, 将水浴锅温度设置为 42 $^{\circ}$ C或将相应抗生素平板温育至 37 $^{\circ}$ C。
2. 相应抗生素溶液、24mg/ml 的 IPTG 溶液及 20mg/ml 的 X-gal 溶液。注意 20mg/ml 的 X-gal 溶液要避光保存。

## 常规操作步骤

**1. 从-70℃冰箱中取出感受态细胞置于冰上融化，如需分装可将刚融化的细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中，再置于冰浴中。**

\* 一次转化感受态细胞的建议用量为 50-100  $\mu\text{l}$ ，可以根据实际情况分装使用。应注意所用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一。

\* 以下实验以 100  $\mu\text{l}$  感受态细胞为例。

**2. 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA (1-10 ng, 且体积<10  $\mu\text{l}$ )，轻轻旋转离心管以混匀内容物，冰浴 30 分钟。**

\* 转化效率与外源 DNA 的浓度在一定范围内成正比，但当加入的外源 DNA 量过多或体积过大时反而会降低转化效率。转化时 DNA 体积要小于感受态细胞体积的十分之一。

**3. 将离心管置于 42℃水浴中 90 秒，迅速将管转移到冰上 3 分钟。**

\* 注意该过程不要摇动离心管。

**4. 向离心管中加入 900  $\mu\text{l}$  无菌 LB 培养基（不含抗生素），混匀后置于 37℃摇床振荡培养 1 小时（160-220 转/分钟）。**

\* 该步骤的目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达，使菌体复苏。

**5. 将已转化的感受态细胞低速离心（5000 rpm, 4 分钟）后弃掉部分上清，保留 100-150 $\mu\text{l}$  培养基，用移液器轻轻吹打悬浮菌体后，全部加到含相应抗生素的 LB 固体琼脂培养基上，或含 X-gal、IPTG 及相应抗生素的 LB 琼脂平板表面，用无菌弯头玻棒铺菌器将细胞均匀涂开。**

\* 如果预计的单克隆数量较多，可省略离心步骤，直接取 200-300 $\mu\text{l}$  转化产物涂布平板（过多的菌液涂布可能会使单克隆菌落粘连在一起，难以挑取）。涂布后剩余的菌液可置于 4℃保存，如果次日的转化菌落数过少可以将剩下的菌液再涂布至新的平板上。

**6. 将平板置于室温直至液体被吸收，倒置平板，37℃培养 12-16 小时可出现单菌落或蓝白斑。**

## 简易操作步骤

*此步骤不适用某些抗生素抗性的质粒（比如卡那霉素抗性），若出现转化异常，请用常规步骤操作。*

**1. 将选择性固体培养基放于培养箱中预热至 37℃。**

**2. 从-70℃冰箱中取出感受态细胞置于冰上融化，如需分装可将刚融化的细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中，再置于冰浴中。**

**3. 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA (1-10 ng, 且体积<10  $\mu\text{l}$ )，轻轻旋转离心管以混匀内容物，冰浴 3-5 分钟。**

\* 转化效率与外源 DNA 的浓度在一定范围内成正比，但当加入的外源 DNA 量过多或体积过大时反而会降低转化效率。转化时 DNA 体积要小于感受态细胞体积的十分之一。

**4. 取已转化的感受态细胞直接涂布到预热至 37℃含相应抗生素的 LB 固体琼脂培养基上，或含 X-gal、IPTG 及相应抗生素的 LB 琼脂平板表面，用无菌弯头玻棒铺菌器将细胞均匀涂开。**

**5. 将平板置于室温直至液体被吸收，倒置平板，37℃培养 12-16 小时可出现单菌落或蓝白斑。**