# JM110 感受态细胞

**产品信息：**

| 组成 | BC110-01 |
|---|---|
| JM110 Competent cells | 20×100μl |
| pUC19（0.1ng/μl） | 5μl |

**储存条件：**-70℃保存，避免反复冻融。

**产品介绍：**

本公司生产的 JM110 感受态细胞是采用大肠杆菌 JM110 菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞，可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测，转化效率可达 $10^6$ cfu/μg。pEGFP-N1 转化 JM110 后 XbaⅠ位点去甲基化，提取的质粒可被 XbaⅠ酶切开，线性化质粒大小为 4733bp。JM110 感受态细胞-70℃保存 6 个月转化效率不发生改变。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。

**基因型：***rpsL (Str$^r$)thrleuthi-1lacYgalKgalTaratonAtsxdamdcmsupE44Δ(lac-proAB)/F′[traD36proABlacI$^q$ZΔM15]*

**产品特点：**dam$^-$，dcm$^-$ 的菌株，排除 dam，dcm 甲基化的影响。

**操作步骤（以下操作均按无菌条件的标准进行）：**

**提示**

- ◆ 感受态细胞应保存在−70℃，不可多次冻融和放置时间过长，以避免降低感受态细胞的转化效率。
- ◆ 进行转化操作时，应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
- ◆ 为防止转化实验不成功，可以保留部分连接反应液，以重新转化，将损失降到最低。

1. 取感受态细胞置于冰浴中，如需分装可将刚融化细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中，置于冰浴中。（一次转化感受态细胞的建议用量为 50-100μl，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 100μl 感受态细胞为例。
2. 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA，轻轻旋转离心管以混匀内容物，在冰浴中静置 30 分钟。
3. 将离心管置于 42℃水浴中放置 60 秒钟，然后快速将管转移到冰浴中，使细胞冷却 2 分钟，该过程不要摇动离心管。（此步骤也可将离心管置于室温进行，时间不需十分准确，夏季或室温较高时，可放置 5-8 分钟左右；如果室温较低，可延长时间至 8-15 分钟左右。**条件允许建议使用 42℃热激方法**。）
4. 向每个离心管中加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基（不含抗生素），混匀后置于 37℃ ,150rpm，摇床振荡培养 60 分钟，目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达，使菌体复苏。

5. 无菌条件下，取适量菌液加到含相应抗生素的 LB 固体培养基平板上，用无菌的细菌涂布器或玻璃珠将细胞均匀涂开。等平板中的液体完全吸收后，倒置平板，37℃培养 12-16 小时。（涂布用量可根据具体实验来调整。转化质粒在 10ng 左右，90mm 平皿涂布 100μl，55mm 平皿涂布 50μl；连接产物的转化菌液建议离心后倒掉大部分上清，余 200μl，取 100μl 用于涂布。）
6. 保留剩余的菌液于 4℃冰箱中，视平板上菌落生长情况决定去留。

**相关试剂及培养基的制备方法：**

1. LB 液体培养基：称取 10g Tryptone，5g Yeast Extract 和 10g NaCl 置于 1L 烧杯中。加入约 800ml 的去离子水，完全溶解后用 2mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 值至 7.0。加去离子水定容至 1L。分装后，121℃高压灭菌 20 分钟。
2. SOB 和 SOC 培养基：称取 20g Tryptone，5g Yeast Extract，0.5g NaCl 置于 1L 烧杯中加入约 800ml 的去离子水，完全溶解后再补加 10ml 250mM KCl 溶液，滴加 5M NaOH（约 0.2ml）调 pH 至 7.0。加入去离子水将培养基定容至 1L。121℃灭菌 20 分钟。使用时加入 5ml 灭菌的 2M $MgC_{l2}$ 溶液（此种培养基称为 SOB）。再补加经 0.22μm 过滤除菌的 1M 葡萄糖溶液 2ml（此种培养基为 SOC）。
3. 转化复苏细菌用的液体 LB 培养基或 SOC 培养基：可以一次高压 50ml 液体培养基，无菌状态按 1ml 每管分装于高压灭菌的 1.5ml 离心管中，装于自封袋中，冻存于-20℃中，每次用一支。可以极大地避免培养基污染和减少劳动量。
4. LB 固体选择培养基：100ml LB 液体培养基中加入 1.5g 琼脂粉，摇匀后，121℃高压灭菌 20 分钟。冷却至 50℃左右时加入相应浓度的抗生素（如 AMP 浓度通常为 100μg/ml），混匀后倒在细菌用的无菌培养皿中，等琼脂凝固后即可使用。
5. IPTG：称量 1.9g IPTG（MW=238.31）充分溶解于 40ml 灭菌水，浓度为 200mmol/L。用无菌 0.22μm 过滤膜过滤除菌。小份分装后，-20℃保存。
6. X-gal：用 DMF（二甲基甲酰胺）配制成 20mg/ml，小份分装（1ml/份）后，-20℃避光保存。



总机：010－52609502／52609503　7×12小时服务热线：15727355159
售后服务部：总机转8011／biomed168@163.com

本产品仅供研究
不用于临床诊断