



中科瑞泰(北京)生物科技有限公司

Tel: 010-58437227 82598075

Fax: 010-82597807

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@163.com

JM110 化学感受态细胞

目录号: RTX305

储存条件: -70℃冻存六个月

产品包装:

货号	RTX305-03
JM110	20×100 μl
Competent cell Control Plasmid pUC18 (1 ng/μl)	10μl

产品简介:

本公司生产的 JM1110 感受态细胞采用经特殊工艺处理得到, 可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC18 质粒检测, 转化效率可达 10^8 cfu/μg, -70℃保存几个月转化效率不发生改变。

JM110 菌株介绍:

基因型: rpsL (Str R) thr leu thi-1 lacY galK galT ara tonA tsx dam dcm supE44 Δ(lac-proAB) /F' [traD36 proAB lacIq lacZ Δ M15]

特点: 1. JM 110 是一种甲基化基因 dam、dcm 缺失的菌株, 使 DNA 不被甲基化, 使用其转化所得到的质粒 DNA, 可被对 dam、dcm 甲基化敏感的限制酶切割。

2. 只适用于转化质粒 DNA。

3. 细胞具有硫酸链霉素(Strr) 抗性。

操作方法: (以下操作均按无菌条件的标准进行)

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 50-100 μl, 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 μl 感受态细胞为例。

2 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA (50 μl 的感受态细胞能够被 1 ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和), 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 45 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。

4 向每个离心管中加入 500 μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37℃摇床振荡培养 45 分钟 (150 转/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 将离心管内容物混匀, 吸取 100 μl 已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOB 或 LB 固体琼脂培养基上, 用无菌的弯头玻棒轻轻的将细胞均匀涂开。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。

注: 涂布用量可根据具体实验来调整。如转化的 DNA 总量较多, 可取更少量转化产物涂布平板; 反之, 如转化的 DNA 总量较少, 可取 200—300 μl 转化产物涂布平板。如果预计的克隆较少, 可通过离心(4,000 rpm, 2 分钟)后吸除部分培养液, 悬浮菌体后将其涂布于一个平板中。(涂布剩余的菌液可置于 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新的培养板)

注: 本制品仅供科研用。请勿用于人体及动物的医疗、临床诊断或作为食品、化妆品、家庭用品的添加剂等用途。
中科瑞泰(北京)生物科技有限公司 电话:400-699-0631 E-mail:real-times@vip.163.com <http://www.real-times.com.cn>

注意事项:

1. 感受态细胞应保存在 -70°C ，不可多次冻融和放置时间过长，以避免感受态细胞的转化效率。
2. 进行转化操作时，应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
3. 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。