

JM110 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL1025)

JM110 Competent Cell	100μl/支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件 (保质期):	-80°C (6个月)

● 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 lacI^q/lacZΔM15]*

● 产品说明

JM110 菌株具有硫酸链霉素抗性(Str^R); 是甲基转移酶 *dam*、*dcm* 缺失的菌株, 提取得到的质粒 DNA, 可被对 *dam*、*dcm* 甲基化敏感的内切酶切割。甲基转移酶 *dam*、*dcm* 突变导致细胞内基因突变率增加, 菌落生长时会产生大小两种菌落, 挑菌时尽量挑中等大小或偏小的菌落。*lacI^q/lacZΔM15* 的存在使 JM110 可以进行蓝白斑筛选, 但转化效率不高。JM110 不含核酸酶 *endA1* 突变, 体内核酸酶含量较高, 提取质粒时务必使用质粒提取试剂盒中去蛋白液尽量去除核酸酶对质粒的污染。JM110 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 >10⁷ cfu/μg DNA。

● 操作方法

1. JM110 感受态细胞从 -80°C 拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打), 冰中静置 25 分钟。
2. 42°C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰上并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μl 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB), 混匀 37°C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 留取 100 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 平板上。
5. 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。

● 注意事项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化。插入冰中 8 分钟内加入目标 DNA, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。混入目的 DNA 时应轻柔操作, 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
2. *dam*、*dcm* 突变导致细胞内基因突变率增加, 转化效率低, 一般用于质粒扩繁, 不建议用于质粒构建; JM110 菌株不含卡那霉素抗性基因, 但对卡那霉素敏感度低, 在 LB(kan 50ug/ml) 平板划线或涂板时会会长出零星小菌落。
3. 若要获得大量, 高纯度质粒, 建议在 TB 培养基 (唯地 CAT#: CM1018L) 中摇菌培养 (以标准质粒 PUC19 为例: 在 TB 营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为 LB 的 3-4 倍, SOC 的 2 倍)