



JM108 感受态细胞

产品信息:

组成	BC125-01
JM108 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:

JM108 为大肠杆菌 K12 菌株。遗传标记 *gyrA96* 表明 DNA 旋转酶（拓扑异构酶 II）有突变，突变的拓扑异构酶 II 促进了质粒 DNA 的构象超螺旋化，细胞中超螺旋质粒占比大大提高。核酸内切酶缺失(*endA1*)提高了质粒 DNA 的产量和质量；重组酶缺陷型 (*recA1*)降低了插入片段的同源重组概率。*IS186* 转座子的插入导致 *lon* 蛋白酶表达缺陷。JM108 菌株非常适合重组质粒构建和高质量超螺旋构象质粒的提取。JM108 感受态细胞由特殊工艺制成，pUC19 质粒检测转化效率达 1×10^8 cfu/μg DNA。

基因型: F'*endA1 recA1 gyrA96 thi-1 relA1 glnV44 Δ(lac-proAB) hsdR17 (rK- mK+)*

菌株抗性: 对氨苄青霉素，卡那霉素，壮观霉素，氯霉素和四环素敏感。具有茶啶酸抗性。

转化步骤:

1. 将感受态细胞置于冰水浴中化冻。待细胞刚化冻后，加入质粒 DNA 或 5-10μl 连接产物到细胞中，用手指拨打管底，轻轻混匀；
2. 冰水浴中放置 30 分钟，不要晃动；
3. 42℃热击 60 秒钟，不要晃动；
4. 冰水浴中放置 2 分钟，不要晃动；
5. 加入 500μl 无菌的 LB 培养基；
6. 置于 37℃摇床中，150-200rpm 震荡复苏培养 60 分钟；
7. 取 50-100 μl 菌液涂布在含有抗性的 LB 平板上。待液体吸干后，倒置平板，37℃过夜培养。

（**平板划线分离法:** 复苏培养结束后，12000rpm 离心 30 秒钟，弃掉上清，留 100μl 左右的液体，用 200μl 吸头轻轻吹打散菌块，取 10μl 重悬的菌液分多点滴在平板上，倾斜吸头，用吸头头部的侧面将滴在平板上的液体来回划线。这个方法可以获得更大的单克隆菌落。此方法主要适用于质粒转化，连接产物转化最好用涂布法。）

（**质粒快速转化步骤:** 对于氨苄青霉素抗性的质粒，将步骤 2 的时间缩短到 5 分钟，完成步骤 4 后，可直接涂布或划线于含氨苄青霉素抗性的 LB 平板上。其它抗性的质粒仍需 60 分钟的复苏。）