本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

JM109(DE3) Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格（CAT#: YC230）

JM109(DE3)：	100μl/支
pUC19 (control vector，0.1ng/μl):	5μl
保存条件(保质期)：	-80℃（6 个月）

产品介绍

JM109(DE3)菌株来源于 JM109，用于高效表达克隆于含有噬菌体 T7 启动子的表达载体(如 pET 系列)的基因。λ噬菌体 DE3 区含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶，该区整合于 JM109 的染色体上，所以称为 JM109(DE3)。可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶，用于 pET 系列，pGEX，pMAL 等质粒的蛋白表达。JM109(DE3)菌株不可用于蓝白斑筛选试验。JM109(DE3)感受态细胞由特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率达 10^7cfu/μg DNA。

基因型： *end*A1 *rec*A1 *gyr*A96 thi-1 *hsd*R17 (r_k^-,m_k^+) *rel*A1 *sup*E44 D (*lac-pro*AB) [F′ *tra*D36 *pro*AB *laqI*^{q}*ZΔ*M15](DE3)

操作方法

1.取感受态细胞置于冰浴中（解冻 1-2 分钟），加入目的 DNA，轻轻混匀，在冰浴中放置 25 分钟。

注意：所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞体积的 1/10。

2.将离心管置于 42℃水浴中放置 60 秒，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。

3. 向每个离心管中加入 700μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基（不含抗生素），混匀后置于 37℃180rpm 摇床振荡培养 45-60 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。

4. 根据实验要求，吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上，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。

注意事项

1. 感受态细胞需要在冰中缓慢融化，插入冰中 10 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。

2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作，避免用移液枪吹吸。

3. 转化高浓度的质粒时可相应减少最终用于涂板的菌量。

4. 感受态细胞应保存在-80℃，请避免反复冻融，以免降低感受态细胞的转化效率。

5. 诱导时，IPTG 浓度可选（0.1-2mM 均可）。

6. 为获得需要量的蛋白，最佳诱导时间，温度，IPTG 浓度需实验者优化。