



M15(pREP4) Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC232)

M15(pREP4) :	100μl/支
pUC19 (control vector , 0.1ng/μl):	5μl
保存条件(保质期) :	-80°C (6 个月)

产品介绍

M15(pREP4)蛋白表达菌株含有 pREP4 质粒, 该质粒通过 p15A 复制子启动复制, 可以与许多原核表达质粒共存于同一大肠杆菌细胞中; 同时该质粒携带 lacI 基因, 可高效表达 lac 抑制蛋白, 在 IPTG 诱导前可抑制目标蛋白的本底表达, 特别适合毒性基因的表达。M15(pREP4)菌株是 PQE 系列质粒的配套菌株, 特别适合 PQE 系列质粒或由 E.coli T5 启动子诱导表达的质粒的蛋白表达。pREP4 质粒赋予该菌株卡那霉素抗性。唯地生物生产的 M15(pREP4)感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率达 10^6 cfu/μg DNA。

基因型: F-, $\Phi 80\Delta lacM15$, *thi*⁻, *lac*⁻, *mtl*⁻, *recA*⁺, *KmR*

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°C 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°C 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°C 培养 12-16 小时。需在培养基中加入终浓度为 35ug/ml 的卡那霉素。

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°C, 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。

7. 由于此感受态细胞转化效率较低; 为了更好的实验效果, 建议至少转入 100ng 以上质粒, 取 1/3 以上复苏后菌液涂板; 否则有可能转化失败。

8. M15(pREP4)菌株在平板或液体培养基中生长时, 需在培养基中加入终浓度为 35ug/ml 的卡那霉素。