



MG1655(DE3) Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC242)

MG1655(DE3) :	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

MG1655(DE3)菌株来源于 W1485,是 K12 的衍生菌株,是一种经过较少改造、比较接近于“野生型”的大肠杆菌工程菌株。MG1655(DE3)外观形态标准,既可作为扩增大肠杆菌野生型基因的模板使用也可作为蛋白表达的宿主菌株使用;T7 RNA 聚合酶位于入噬菌体 DE3 区,该区域被整合于 MG1655 的染色体上,该菌株不含核酸酶 endA1 突变。MG1655(DE3)感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率达 10^6 cfu/μg DNA。

基因型: K12 F- λ- ilvG- rfb-50 rph-1 (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°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。

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。