

Code No. 9053

研究用

TaKaRa

E. coli CJ236
Competent Cells

说明书

目 录

内 容	页 码
● 制品内容	1
● 制品说明	1
● 使用方法	1
● 注意事项	1
● 转化效率	2
● Genotype	2
● 细胞浓度	2
● 保 存	2
● 参考文献	3

● 制品内容

<i>E. coli</i> CJ236 Competent Cells	100 μ l \times 10
pUC119 plasmid (0.1 ng/ μ l)	10 μ l
SOC medium*	1 ml \times 10

* SOC medium:	2%	Bacto tryptone
	0.5%	Bacto yeast extract
	10 mM	NaCl
	2.5 mM	KCl
	10 mM	MgSO ₄
	10 mM	MgCl ₂
	20 mM	Glucose

● 制品说明

Takara 在 Hanahan' s method 基础上进行了改良, 制备出 *E. coli* CJ236 Competent Cells, 当 1 ng pUC119 转化 100 μ l 细胞时, 转化效率可达 1×10^7 cfu/ μ g。

E. coli CJ236 Competent Cells 适用于制备含有 dU 的 ssDNA。通过 CJ236 转化后富集的 ssDNA, 可用于 Kunkel 法进行定点突变。

● 使用方法

A. 质粒载体转化

1. *E. coli* CJ236 Competent Cells 使用前在冰上融化。
2. 轻微混合, 将 100 μ l 装入 Falcon tube (Becton Dickinson 352059 或 352057)。
注意: 不能剧烈振荡混合细胞。由于热激阶段 (步骤 5.) 条件比较关键, 是按照 Falcon 2059 tubes 的壁厚和形状设置的反应条件, 所以建议使用 Falcon 2059 tubes 用于实验操作。
3. 加入 DNA 样品 (建议 ≤ 10 ng)。
4. 冰中放置 30 分钟。
5. 42°C 放置 45 秒。
6. 冰中放置 1-2 分钟。
7. 添加 SOC 培养基 (预先在 37°C 保温) 至终体积 1 ml。
8. 37°C 振荡培养 1 小时 (160-225 rpm)。
9. 取适量涂布于选择培养基。直径 9 cm 的平板的涂布量不超过 100 μ l。
10. 37°C 过夜培养。

B. M13 噬菌体载体转导

1. 步骤 1-8 同上。
2. 在 3 ml 的 YT-soft agar (预先 46°C~48°C 保温) 中, 加入 200 μ l 的宿主菌 (*E. coli* CJ236, A₆₀₀=0.8~1.0)。
3. 取适量 1. 与 2. 混合, 迅速铺于 YT-plate 上。
4. 平板置于室温放置 10~15 分钟后, 37°C 过夜培养。

● 注意事项

1. 将感受态细胞从 -80°C 冷冻取出后请立即置于干冰/乙醇中。使用前保存于干冰/乙醇中。
2. 可使用 microcentrifuge tubes 代替 Falcon tubes (Becton Dickinson 352059 或 352057, 等), 但效率可能会降低。
3. 当使用 100 μ l 感受态细胞时, 加入的高纯度 DNA 样品不要超过 10 ng。否则转化效率会降低。

4. 当改变感受态细胞数量或 tubes 类型时, 适当调整反应条件。例如, 当使用 microcentrifuge tubes 时, 42°C 放置 60 秒。
5. L-broth 或 ϕ b-broth 可替代 SOC 培养基。此时, 转化效率可能会降低。

L-broth : Ingredient	per liter water
Bacto tryptone	10 g
Bacto yeast extract	5 g
NaCl	5 g

用 1 N NaOH 调整 pH 到 7.5 并高压灭菌。

ϕ b-broth: Ingredient	per liter water
Bacto tryptone	20 g
Bacto yeast extract	5 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	5 g

用 1 N KOH 调整 pH 到 7.5 并高压灭菌。

6. 稀释时使用 SOC 培养基。
7. 建议在选择培养基中加入 Chloramphenicol (30 μ g/ml) 以保证 F' 质粒稳定。

YT soft agar: Ingredient	per 100 ml water
Bacto tryptone	0.8 g
Bacto yeast extract	0.5 g
NaCl	0.5 g

用 1 N NaOH 调整 pH 到 7.6, 加入 agar 至浓度为 0.6%, 并高压灭菌。

YT-plate: Ingredient	per liter water
Bacto tryptone	8 g
Bacto yeast extract	5 g
NaCl	5 g

用 1 N NaOH 调整 pH 到 7.5, 加入 agar 至浓度为 1.5%, 并高压灭菌。

10. 制备感受态细胞。
11. 不建议将解冻的感受态细胞再次冷冻保存。但是, 如果再次冻结不可避免, 将细胞置于干冰/乙醇中迅速冷冻, 置于 -80°C 保存。但是, 转化效率可能会降低至少一个数量级。

● 转化效率

转入 1 ng 的 pUC119, 涂于含有 Amp^r 的选择培养基进行筛选。

转化效率 : $>1 \times 10^7$ cfu/ μ g pUC119

● Genotype

E. coli CJ236 : *dut1, ung1, thi-1, recA1* / pCJ105 (F' *camf*)

● 细胞浓度

$1-2 \times 10^9$ bacteria/ml

● 保 存

-80°C

注意: 如果不在 -80°C 下保存, 转化效率将会降低。此时, 在使用前, 请使用附带的 pUC119 对照质粒来验证细胞的转化效率。不能液氮保存。

● 参考文献

- 1) Hanahan, D. (1983) *J.Mol.Biol.* **166**, 557.
- 2) Kunkel, T.A. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 488.
- 3) Kunkel, T.A. (1985) *Methods in Enzymology* **154**, 367.
- 4) Zoller, M.J. and Smith, M. (1983) *Methods in Enzymology* **100**, 468.

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经TAKARA BIO INC.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考 TAKARA BIO INC.网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

技术咨询热线：

0411-87641685, 87641686
4006518761, 4006518769

TAKARA BIO INC.

URL: <http://www.takara.com.cn>

v201702Da