

Code No. 9055

研究用

---

**Takara**

*E.coli* MV1184 Competent Cells

---

说明书

# 目 录

内 容	页 码
● 制品说明	1
● 制品内容	1
● 保 存	1
● 使用方法	1
● 质量标准	2
● Genotype	3
● 细胞浓度	3
● 参考文献	3
● 关联产品	3

## ● 制品说明

Takara 在 Hanahan's method 基础上进行了改良, 制备出 *E.coli* MV1184 Competent Cells, 当 1 ng pUC119 转化 100  $\mu$ l 细胞时, 转化效率可达  $1 \times 10^7$  cfu/ $\mu$ g。

*E.coli* MV1184 宿主具有琥珀突变抑制因子, 只允许没有发生琥珀突变的载体进行复制, 可以用作琥珀突变 DNA 的选择宿主。同时本宿主含有 F' 质粒, 也可作为 M13 phage 载体 DNA 的宿主菌, 制备单链 DNA。此外, 本宿主在使用 pUC 系列质粒载体或 M13 phage 载体进行转化或转染时, 具有  $\alpha$ -互补性, 可以通过在培养基中加入 X-Gal 和 IPTG 进行蓝白筛选。

X-Gal : 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- $\beta$ -D-Galactoside

IPTG : Isopropyl- $\beta$ -D-thiogalactopyranoside

## ● 制品内容

<i>E.coli</i> MV1184 Competent Cells	100 $\mu$ l $\times$ 10
pUC119 plasmid (0.1 ng/ $\mu$ l)	10 $\mu$ l
SOC Medium*	1 ml $\times$ 10

* SOC Medium: 2%	Tryptone
0.5%	Yeast extract
10 mM	NaCl
2.5 mM	KCl
10 mM	MgSO <sub>4</sub>
10 mM	MgCl <sub>2</sub>
20 mM	Glucose

## ● 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 对照质粒来确认细胞的转化效率。不能液氮保存。

## ● 使用方法

### 质粒载体转化

1. *E.coli* MV1184 Competent Cells 使用前在冰上融化。
2. 轻微混合, 取 100  $\mu$ l 感受态细胞到 14 ml 的圆底 tube 中。  
注意: 不能剧烈振荡混合细胞。
3. 加入 DNA 样品 (建议  $\leq$  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. 取适量涂于选择培养基\*。
10. 37°C 过夜培养。

\*: 直径 9 cm 的平板的涂布量不超过 100  $\mu$ l。

### M13 噬菌体载体转染

1. 步骤 1-8 同上。

2. 在 3 ml 的 YT soft agar (预先在 46°C~48°C 保温) 中, 加入 200  $\mu$ l 的宿主菌 (*E. coli*/MV1184, A<sub>600</sub>=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) 可以使用 1.5 ml 离心管进行转化, 但与 14 ml 圆底 tube (CORNING Code: 352059 或 352057 等) 相比, 转化效率可能会降低。
- 3) 当使用 100  $\mu$ l 感受态细胞时, 加入的高纯度 DNA 样品不超过 10 ng。否则转化效率会降低。
- 4) 当改变实验规模时, 适当调整反应条件。
- 5) L-broth 或  $\phi$ b-broth 可替代 SOC 培养基。此时, 转化效率可能会降低。

· L-broth: <u>Ingredient</u>	<u>per liter water</u>
Tryptone	10 g
Yeast extract	5 g
NaCl	5 g

用 1 N NaOH 调整 pH 到 7.5 并高压灭菌。

· $\phi$ b-broth: <u>Ingredient</u>	<u>per liter water</u>
Tryptone	20 g
Yeast extract	5 g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	5 g

用 1 N KOH 调整 pH 到 7.5 并高压灭菌。

### 6) 培养基组成

YT soft agar: <u>Ingredient</u>	<u>per 100 ml water</u>
Tryptone	0.8 g
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: <u>Ingredient</u>	<u>per liter</u>
Tryptone	8 g
Yeast extract	5 g
NaCl	5 g

用 1 N NaOH 调整 pH 到 7.6, 加入 agar 至浓度为 1.5%, 并高压灭菌。

### 7) 培养感受态细胞制备宿主菌。

### 8) 当加入 X-Gal 或 IPTG 时, 按照以下操作进行:

- 将 100 mM IPTG 按 100  $\mu$ l/100 ml 的比例加入到 agar medium 中, 如果使用 soft agar, 则比例为 25  $\mu$ l/3 ml。
- 将 20 mg/ml X-Gal (溶解于二甲基甲酰胺) 按 200  $\mu$ l/100 ml 的比例加入到 medium 中, 若使用 soft agar, 则比例为 50  $\mu$ l/3 ml。

### 9) 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。

## ● 质量控制

### 1. 转化效率

按照“质粒载体转化”的使用方法, 使用 1 ng 的 pUC119 转化到 100  $\mu$ l *E. coli* MV1184 Competent

Cells 中，在含有 Ampicillin 的 LB 平板上筛选，转化效率： $>1 \times 10^7$  cfu/μg pUC119。

## 2. F' 质粒稳定性

转入 pUC119 的 *E. coli* MV1184 Competent Cells，在含有 Ampicillin (100 μg/ml)、IPTG (0.3 mM) 和 X-Gal (60 μg/ml) 的 LB 平板上培养，产生的白色菌落占总菌落数的 1% 以下。

## ● Genotype

*E. coli* MV1184: *ara*,  $\Delta$  (*lac-proAB*), *rpsL*, *thi* ( $\phi$ 80 *lacZ* $\Delta$ M15),  $\Delta$  (*srl-recA*) 306::*Tn10* (*tet*) *F'* [*traD36*, *proAB*<sup>+</sup>, *lac I*<sup>q</sup>, *lacZ* $\Delta$ M15]

## ● 细胞浓度

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

## ● 参考文献

Hanahan D. J *Mol Biol.* (1983) **166**: 557.

## ● 关联产品

pUC118 DNA (Code No. 3318)

pUC119 DNA (Code No. 3319)

pUC118 DNA / BAP (Code No. 3320 – 3324)

pTV118N DNA (Code No. 3328)

X-Gal (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- $\beta$ -D-Galactoside) (Code No. 9031)

IPTG (Isopropyl- $\beta$ -D-thiogalactopyranoside) (Code No. 9030)

### 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.takarabio.com](http://www.takarabio.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: <https://www.takarabiomed.com.cn>