

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 质粒检测转化效率高于 10^8 cfu/ μ g DNA。

产品组成

Item	Vol	Transformation Efficiency
JM109(DE3) Chemically Competent Cell	100 μ l	$>1 \times 10^8$ cfu/ μ g

贮藏条件

本产品应置于-80°C储存, 勿置于-20°C或液氮中保存。

质量控制

- 无外源质粒 DNA 残留。
- 转化效率超过 1×10^8 cfu/ μ g pUC19 DNA

使用方法

1. JM109(DE3) 感受态细胞从-80°C拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的 DNA 并用手拨打 EP 管底混匀, 冰中静置 25 分钟。
2. 42°C水浴热激 45 秒, 迅速放回冰上并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μ l 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB), 混匀后 37°C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 留取 100 μ l 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37°C培养箱过夜培养。

注意事项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化，插入冰中 8 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. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
3. 诱导时，IPTG 浓度可选（0.1-2 mM 均可）。
4. 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。

附录

1、常用抗生素浓度

抗生素	工作浓度
Ampicillin	100 µg/ml
Carbenicillin	100 µg/ml
Chloramphenicol	33 µg/ml
Kanamycin	30 µg/ml
Streptomycin	25µg/ml
Tetracycline	15 µg/ml

2、DNA 中的转化抑制物及去除方式

转化抑制物	去除方式
Detergents	乙醇沉淀
Phenol	氯仿抽提及乙醇沉淀
Ethanol or Isopropanol	DNA 溶解前彻底晾干
PEG	柱式纯化或酚氯仿抽提及乙醇沉淀