



K-12 MG1655 感受态细胞

K-12 MG1655 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1022

目录编号	产品名称	包装单位
☐ ZC1022-1	K-12 MG1655 感受态细胞	10×100μl
☐ ZC1022-2	K-12 MG1655 感受态细胞	20×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl) 5μl (质量控制用)。

储存: -70℃ 保存六个月。

产品介绍:

K-12 MG1655 是一株 K 系列的大肠杆菌, MG1655 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“WT-野生型”的大肠杆菌工程菌株。MG1655 外观形态标准, 同时可做为扩增大肠杆菌 WT 型基因的模板使用, 也可作为蛋白表达的宿主菌株使用, 但不含核酸酶 endA1 突变, 体内核酸酶含量较高, 提取质粒时务必使用质粒提取试剂盒中去蛋白液尽量去除核酸酶, 以防提取的质粒被降解; 经检测无 Amp 和 Kan 抗性, 可用 LB 培养基, 37℃ 培养, 其代谢类型是异养兼性厌氧型, 可用于代谢研究、基因编辑等实验。

本公司生产的 K-12 MG1655 感受态细胞是采用特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测, 转化效率高达 10^7 cfu/μg DNA 以上。

The original K-12 wild-type strain from the Stanford collection contained both the F plasmid and phage lambda. MG1655 was constructed by curing that strain using acridine orange and UV. This strain was sequenced by the Blattner laboratory because it approximates wild-type E. coli and "has been maintained as a laboratory strain with minimal genetic manipulation, having only been cured of the temperate bacteriophage lambda and F plasmid by means of ultraviolet light and acridine orange, respectively." (Blattner, et al. 1997). The mutations listed in the genotype are present in most K-12 strains and were probably acquired early in the history of the laboratory strain. A frameshift at the end of rph results in decreased pyrE expression and a mild pyrimidine starvation, such that the strain grows 10 to 15% more slowly in pyrimidine-free medium than in medium containing uracil (Jensen 1993). The ilvG- mutation is a frameshift that knocks out acetohydroxy acid synthase II (Lawther, et al. 1982). The rfb-50 mutation is an IS5 insertion that results in the absence of O-antigen synthesis (Liu and Reeves 1994).

MG1655 was derived and named by Mark Guyer from strain W1485, which was derived in Joshua Lederberg's lab from a stab-culture descendant of the original K-12 isolate. This original E. coli strain K-12 was obtained from a stool sample of a diphtheria patient in Palo Alto, CA in 1922 (Bachmann, B., pp. 2460-2488 in Neidhardt et al. 1996, Escherichia coli and Salmonella: Cellular and Molecular Biology, ASM Press). MG1655 grows on LB and M9 minimal medium (+ Glucose + 1ug/ml thiamine).

基因型为: F- lambda- ilvG- rfb-50 rph-1(NC_000913)



操作步骤：

以下操作均按无菌条件的标准进行：

- **转化:**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 30 分钟。
注意: 所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:**将离心管置于 42℃ 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- **复苏:**向每个离心管中加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37℃ 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。
- **涂板:**根据实验要求 (质粒, 重组连接产物转化), 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℃ 培养 12-16 小时。

提示：

- 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下, 半小时内活性无明显变化, 因此, 同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70℃, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 请在无菌条件下, 根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸, 整个过程要轻柔, 尽量低温操作。
- 为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接反应液, 以重新转化, 将损失降到最低。
- 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。

ZOMANBIO