

## M15(pREP4) 感受态细胞

### M15(pREP4) Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G2062

保存条件: -80℃

产品规格: 10×100μl 50×100μl

#### 产品介绍

基 因 型

F-, Φ80 Δ lacM15, thi, lac-, mtl-, recA+, KmR

简 要 说 明

M15(pREP4)蛋白表达菌株含有 pREP4 质粒，该质粒通过 p15A 复制子启动复

制，可以与许多原核表达质粒共存于同一大肠杆菌细胞中；同时该质粒携带 **lac I** 基因，可高效表达 **lac** 抑制蛋白，在 **IPTG** 诱导前可抑制目标蛋白的本底表达，特别适合毒性基因的表达。M15(pREP4)菌株是 **PQE** 系列质粒的配套菌株，特别适合 **PQE** 系列质粒或由 **E.coli T5** 启动子诱导表达的质粒的蛋白表达。pREP4 质粒赋予该菌株卡那霉素抗性。MLBio 生产的 M15(pREP4)感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率达  $2 \times 10^8 \text{cfu}/\mu\text{g DNA}$ 。

## 操作说明

1. M15 (pREP4) 感受态细胞从  $-80^\circ\text{C}$  拿出，迅速插入冰中，5 分钟后待菌块融化，加入目的质粒并用手拨打 EP 管底混匀，冰中静置 25 分钟。
2.  $42^\circ\text{C}$  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  $700\mu\text{l}$  不含抗生素的无菌培养基(2YT 或 LB)，混匀后  $37^\circ\text{C}$ ，200rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌，留取  $50\ \mu\text{l}$  左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 LB 培养基上（若质粒浓度较高，也可稀释后涂板，务必保证能在平板上挑到单克隆菌落）。
5. 将平板倒置放于  $37^\circ\text{C}$  培养箱过夜培养。M15 (pREP4) 菌株在平板或液体培养基中生长时，需在培养基中加入终浓度为  $35\mu\text{g}/\text{ml}$  的卡那霉素。

## 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（0.1-10 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。