

Code No. 9028

研究用

TaKaRa

E. coli HST08

Premium Electro-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	2
● 细胞浓度	2
● 参考文献	2
● 关联产品	2

● 制品说明

E. coli HST08 Premium Electro-Cells 是 Takara Bio 特别制备的适用于电穿孔法的制品。用高压电脉冲电流瞬间击穿细胞的细胞质膜，从而使外源 DNA 转入宿主细胞内的转化方法称为电穿孔法。通过此种方法制备的感受态细胞转化效率高、产量大，尤其适合在短时间内将少量样品转入大肠杆菌内。

E. coli HST08 是 *mrr*, *hsdRMS*, *mcrBC*, *mcrA* 缺失的菌株，这使得其可广泛应用于甲基化质粒的制备、基因文库的制作以及 BAC 文库的构建。即便转化较大的质粒，也可维持较高的转化效率和菌落生长率*。10 kb 以上长片段 DNA 克隆和构建基因文库时，可与 Takara DNA Ligation Kit LONG (Code No. 6024) 一起使用，效果很好。

*：与其他相同基因型的感受态细胞相比较。

对于 pUC 系列质粒，可通过 β -半乳糖苷酶的 α -互补性，在培养基中添加 X-gal 进行蓝白筛选，以筛选阳性克隆。

X-Gal: 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Galactoside

● 制品内容

<i>E. coli</i> HST08 Premium Electro-Cells	50 μ l \times 10
pUC19 plasmid (10 pg/ μ l)	10 μ 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 ₄
	10 mM	MgCl ₂
	20 mM	Glucose

● 保 存

-80°C

注意：-80°C 或更低温度下保存。如果保存温度不能恒定，转化效率将会降低。请使用附带的 pUC19 对照质粒来确认保存细胞的转化效率。不能液氮保存。

● 使用方法

1. *E. coli* HST08 Premium Electro-Cells (50 μ l) 使用前在冰上融化。
2. 在融化的细胞中加入 1~2 μ l DNA 溶液*¹。
3. 将 Electro-Cell 及 DNA 混合液注入到冰中预冷的 0.1 cm 电转杯内 (Cuvette)。
4. 电压冲击*²后，迅速置于冰中冷却，加入 1 ml SOC 培养基 (冰浴中预冷)。
5. 37°C 振荡培养 1 小时 (160~225 rpm)。
6. 取适量涂布选择培养基*³。
7. 37°C 过夜培养。

*¹: 当 DNA 溶液中有盐存在时，用 TE buffer 或灭菌水稀释，也可用乙醇沉淀方法脱盐 (建议 <10 ng)。使用 TaKaRa DNA Ligation Kits 获得的 DNA 样品进行转化前，需要进行乙醇沉淀。

*²: Takara Bio 使用 BIO-RAD MicroPulser，电压为 1.5 kV。当使用 BIO-RAD Gene Pulser 时，标准设置为 200 Ω , 25 μ F, 1.5 kV。

*3: 直径为 9 cm 的平板涂布量不超过 100 μ l。如有必要, 使用 4.中的培养基稀释菌液后涂布。

【注意事项】

1. 将 Electro-cells 从 -80°C 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. 当使用 50 μ l Electro-cells 时, 高纯度样品 DNA 添加量不要超过 10 ng, 否则会降低转化效率。
3. 当使用 50 μ l Electro-cells 时, DNA 溶液添加量不要超过 5 μ l, 否则会降低转化效率。
4. 当改变实验规模时, 适当改变反应条件。
5. L-broth 或 ϕ b-broth 可代替 SOC 培养基, 但转化效率会降低。
 - L-broth: 10 g Tryptone, 5 g Yeast extract, 5 g NaCl/1 L water, 使用 1 N NaOH 调整 pH7.5 左右并高压灭菌;
 - ϕ b-broth: 5 g Yeast extract, 20 g Tryptone, 5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ /1 L water, 使用 1 N KOH 调整 pH7.5 左右并高压灭菌。
6. 当使用 X-Gal 时, 按照以下操作进行:
 - 将 20 mg/ml X-Gal (溶解于二甲基甲酰胺) 按 200–300 μ l/100 ml 的比例加入到 agar media 中。
7. 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。

● 质量标准

[1] 转化效率

转入 10 pg 的 pUC19, 涂于含有 ampicillin 的 L-plate 进行筛选。

转化效率 : $> 1 \times 10^9$ colonies/ μ g pUC19 plasmid

[2] β -半乳糖苷酶的 α -互补性

转化 pUC19 DNA 时, 含有 100 μ g/ml ampicillin 和 60 μ g/ml X-Gal 的 L-agar plate 上出现蓝色菌落。

● Genotype

E. coli HST08 Premium: F^- , *endA1*, *supE44*, *thi -1*, *recA1*, *relA1*, *gyrA96*, *phoA*, Φ 80d *lacZ* Δ M15, Δ (*lacZYA - argF*)U169, Δ (*mrr - hsdRMS - mcrBC*), Δ *mcrA*, λ^-

● 细胞浓度

$>1 \times 10^{10}$ bacteria/ml

● 参考文献

- 1) Dower W J, Miller J F, and Ragsdale C W. *Nucl Acids Res* . (1988) **16**: 6127.
- 2) Bottger E C. *Biotechniques* . (1988) **6**: 878.

● 关联产品

E. coli HST08 Premium Competent Cells (Code No. 9128)

TaKaRa DNA Ligation Kit LONG (Code No. 6024)

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

pUC19 DNA (Code No. 3219)

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。

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>

v202012Da