

Code No. 9128

研究用

TaKaRa

E. coli HST08 Premium
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	2
● 细胞浓度	2
● 参考文献	2
● 关联产品	2

● 制品说明

Takara 在 Hanahan' s method 基础上进行了改良, 制备出具有很高转化效率的 *E. coli* HST08 Premium Competent Cells。另外, *E. coli* HST08 是 *mrr*, *hsdRMS*, *mcrBC*, *mcrA* (这些基因是大肠杆菌切除外源甲基化 DNA 所必需的基因) 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亚克隆。当和较大质粒一起使用时, 也可维持较高转化效率和菌落生长率*。10 kb 以上长片段 DNA 克隆和基因文库构建时, 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, 以筛选重组体。

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

● 制品内容

<i>E. coli</i> HST08 Premium Competent Cells	100 μ l \times 10
pUC19 plasmid (0.1 ng/ 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: 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 pUC19 对照质粒来确认细胞的转化效率。不能液氮保存。

● 使用方法

1. *E. coli* HST08 Premium Competent Cells 使用前在冰上融化。
2. 轻微混合, 将 100 μ l 细胞加入到 14 ml 圆底 tube 中 (Falcon tube)。不能通过振荡方式来混匀细胞。
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。

*: 取不超过 100 μ l 的菌液涂于直径 9 cm 的平板上。如有需要, 用步骤 7 中使用的培养基对菌液进行稀释。

[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. 可使用 1.5 ml microcentrifuge tubes 代替 14 ml 圆底 tubes (CORNING Code No. 352059 或 352057 等), 但效率可能会降低。
3. 当使用 100 μ l 感受态细胞时, 加入不超过 10 ng 的高纯度 DNA 样品。否则转化效率会降低。
4. 当改变感受态细胞使用体积或 tube 类型时, 适当调整反应条件。例如, 当使用 1.5 ml microcentrifuge tubes 时, 42°C放置 60 秒而不是 45 秒。
5. L-broth 或 ϕ b-broth 可替代 SOC 培养基。此时, 转化效率可能会降低。
 - L-broth : 10 g Tryptone, 5 g Yeast extract, 5 g NaCl, 用 1 N NaOH 调整 pH 到 7.5, 使体系终体积为 1 L, 高压灭菌。
 - ϕ b-broth: 5 g Yeast extract, 20 g Tryptone, 5 g MgSO₄ · 7H₂O, 用 1 N KOH 调整 pH 到 7.5, 使体系终体积为 1 L, 高压灭菌。
 - L-plates: 10 g Tryptone, 5 g Yeast extract, 5 g NaCl, 用 1 N NaOH 调整 pH 到 7.5, 添加 agar 到 1.5%, 使体系终体积为 1 L, 高压灭菌。
6. 当加入 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 1 ng 的 pUC19 plasmid, 涂于含有 ampicillin 的 L-plate 进行筛选。

转化效率 : $> 1 \times 10^8$ colonies/ μ g pUC19 plasmid

[2] β -半乳糖苷酶的 α -互补性

转化 pUC19 plasmid 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, *recA* 1, *relA* 1, *gyrA* 96, *phoA*, Φ 80d *lacZ* Δ M15, Δ (*lacZYA* - *argF*) U169, Δ (*mrr* - *hsdRMS* - *mcrBC*), Δ *mcrA*, λ ⁻

● 细胞浓度

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

● 参考文献

- 1) Hanahan D. *J Mol Biol*. (1983) **166**: 557.
- 2) Messing J. *Gene*. (1985) **33**: 103.

● 关联产品

E. coli HST08 Premium Electro-Cells (Code No. 9028)

TaKaRa DNA Ligation Kit LONG (Code No. 6024)

pUC118 DNA (Code No. 3318)

pUC119 DNA (Code No. 3319)

Endonuclease cut pUC118 DNA (BAP treated) (Code No. 3320 - 3324)

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

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.takara-bio.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>

v202007Da