

Code No. 9021

研究用

TaKaRa

E. coli HB101 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 HB101 是 Takara Bio 特别制备的适用于电穿孔法的制品。用高电压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 HB101 电转细胞可用于制备 DNA 文库或重组质粒的亚克隆。此电转细胞不能进行蓝白斑筛选。

● 制品内容

<i>E. coli</i> HB101 Electro-Cells	50 μ l $\times$ 10
pBR322 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。可使用附带的 pBR322 对照来确认细胞的转化效率。不能液氮保存。

● 使用方法

1. *E. coli* HB101 Electro-Cell (50 μ l) 使用前在冰上融化。
2. 在融化的 Electro-Cell 中加入 1~2 μ l DNA 溶液*。
*：当 DNA 溶液中有盐存在时，用 TE buffer 或灭菌水稀释，也可用乙醇沉淀脱盐（建议 $\leq$ 10 ng）。
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. 电冲击*后，迅速置于冰中冷却，加入 1 ml SOC 培养基。
*：Takara Bio 使用 BIO-RAD MicroPulser，电压为 1.8 kV。当使用 BIO-RAD Gene Pulser 时，标准设置为 200 Ω ，25 μ F，1.8 kV。
5. 转移到 14 ml 圆底试管（CORNING Code: 352059 或 352057, etc.）中。37°C振荡培养 1 小时（160~250 rpm）。
6. 取适量涂布选择培养基。
*：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 4 中使用的培养基对菌液进行稀释。
7. 37°C过夜培养。

【注意事项】

1. 将 electro-cells 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. 当使用 50 μ l electro-cells 时，添加不多于 10 ng 的高纯度样品 DNA。否则会降低转化效率。
3. 当改变实验规模时，适当改变反应条件。
4. 导入分子量较大的 DNA (>7 kb) 时，转化效率可能降低。

5. 使用 TE buffer 制备 DNA 样品。DNA 样品溶液中高盐浓度可能会降低转化效率。

6. L-broth 或 ϕ b-broth 可代替 SOC 培养基。此时，效率会降低。

L-broth : Ingredient	per liter water
Tryptone	10 g
Yeast extract	5 g
NaCl	5 g

用 1 N NaOH 调整 pH7.5 左右并高压灭菌。

ϕ b-broth: Ingredient	per liter water
Tryptone	20 g
Yeast extract	5 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	5 g

用 1 N KOH 调整 pH7.5 左右并高压灭菌。

L-plates : Ingredient	per liter water
Tryptone	10 g
Yeast extract	5 g
NaCl	5 g

用 1 N NaOH 调整 pH 到 7.5，添加 agar 到 1.5%，高压灭菌。

7. Electro-Cells 一旦解冻，不能再次冻结保存。如果再次冻结不可避免，将细胞置于干冰/乙醇中快速冻结，于-80℃保存。但是，转化效率可能会降低至少一个数量级。

● 质量标准

转入 10 pg 的 pBR322，涂于 Amp⁺选择培养基进行筛选。

转化效率：> 5×10^8 cfu/μg pBR322

● Genotype

E. coli HB101: *supE44* , Δ (*mcrC-mrr*) , *recA13*, *ara-14*, *proA2*, *lacY1*, *galk2*, *rpsL20*, *xyl-5*,
mtl-1 , *leuB6* , *thi-1*

● 细胞浓度

> 1×10^{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 HB101 Competent cells (Code No. 9051)
pBR322 DNA (Code No. 3050)

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