

Code No. 9131

研究用

Takara

E. coli HST16CR
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
● 细胞密度	2
● 参考文献	3
● 关联产品	3

● 制品说明

感受态细胞是具有摄取外源 DNA 能力的受体菌，可摄取基因重组质粒等，是转化时的重要工具。Takara 在 Hanahan' s method 基础上进行了改良，制备出的 *E. coli* HST16CR Competent Cells。

E. coli HST16CR Competent Cells 是以 *E. coli* HST08 Premium Competent Cells (Code No. 9128) 为基础，获得的 ColE1 ori 的复制相关基因 *pcnB* 缺失的具有高转化效率的菌株。由于 *pcnB* 基因的缺失，能够降低 pUC 系列载体的拷贝数，可有效用于难以克隆的含跨膜结构域蛋白质等、克隆基因对大肠杆菌生长有抑制作用的高拷贝载体克隆。

因为是以 *E. coli* HST08 Premium Competent Cells 为基础，缺失外源甲基化 DNA 的基因群(*mrr-mcrBC-hsdRMS*)和 *mcrA*，因此可用于甲基化 DNA 的克隆、基因组文库构建和常规亚克隆。

另外，使用 pUC 系列载体转化时，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> HST16CR 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 组成:

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

质粒载体的转化

1. *E. coli* HST16CR Competent Cells 使用前在冰上融化。
2. 融化后，轻微混合均匀，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. 加入转化的质粒 DNA (建议 10 ng 以下)。
4. 冰中放置 30 分钟。
5. 42°C 加热 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. 取适量涂于平板上*。
10. 37°C 过夜培养。

*: 取不超过 100 μl 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. 取出所需管数的感受态细胞后, 搬运时请置于干冰/乙醇中。
2. 可使用 1.5 ml microcentrifuge tubes 代替 14 ml 圆底 tubes (CORNING Code: 352059 或 352057, 等), 但效率可能会降低。
3. 当使用 100 μl 感受态细胞时, 加入不超过 10 ng 的高纯度质粒 DNA。增加 DNA 量转化效率会降低。
4. 当改变感受态细胞使用体积或 tube 类型时, 需要研讨适当的反应条件。例如, 当使用 1.5 ml microcentrifuge tubes 时, 请 42°C 加热 60 秒。
5. 可以使用 L-broth 或 ϕb -broth 替代 SOC 培养基。此时, 转化效率可能会降低。

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

用 1 N NaOH 调整 pH 到 7.5, 加水使终体积为 1 L, 高压灭菌。

• ϕb -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 pH 到 7.5, 加水使终体积为 1 L, 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%, 加水使终体积为 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 μl /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

转化质粒载体时, 转入 1 ng 的 pUC19 plasmid, 涂于 Amp⁺ 的 L-plate 进行筛选。

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

[2] 确认 β -半乳糖苷酶的 α -互补性

转化 pUC19 plasmid 时, 确认含 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ampicilin 和 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ X-Gal 的 L-agar plate 上出现蓝色菌落。

● Genotype

E. coli HST16 CR:

F, *endA1*, *supE44*, *thi* -1, *recA* 1, *relA* 1, *gyrA* 96, *phoA*, $\Phi 80\text{d}$ *lacZ* ΔM15 , Δ (*lacZYA* - *argF*) *U169*, Δ (*mrr* - *hsdRMS* - *mcrBC*), ΔmcrA , ΔpcnB , λ^-

● 细胞密度

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

● 参考文献

- 1) Hanahan D. *J Mol Biol.* (1983) **166**: 557–580.
- 2) Messing J. *Gene.* (1985) **33**: 103–119.
- 3) Loplatto J. *et al.* *Mol. Gen. Genet.* (1986) **205**(2):285–90.

● 关联产品

- DNA Ligation Kit <Mighty Mix> (Code No. 6023)
 - TaKaRa DNA Ligation Kit LONG (Code No. 6024)
 - E. coli* HST08 Premium Competent Cells (Code No. 9128)
 - E. coli* HST08 Premium Electro-Cells (Code No. 9028)
 - pUC118 DNA (Code No. 3318)
 - pUC119 DNA (Code No. 3319)
 - 限制酶酶切 BAP 处理的 pUC118 DNA (Code No. 3320~3324)
 - X-Gal (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Galactoside) (Code No. 9031)
 - NucleoSpin Plasmid (Code No. 740588.10/.50/.250) *
 - NucleoBond Xtra Midi (Code No. 740410.10/.50/.100) *
- * 请按照使用说明书记载的提取低拷贝质粒的操作流程进行操作。

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>

v202009Da