

Code No. 9129

研究用

Takara

E. coli HST04 *dam*⁻/*dcm*⁻

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 *E. coli* HST04 *dam*⁻/*dcm*⁻ Competent Cells, 当用 1 ng pUC19 转化 100 μl 细胞时, 转化效率 > 1 × 10⁶ cfu/μg。

E. coli HST04 *dam*⁻/*dcm*⁻ 是甲基化基因 *dam*、*dcm* 缺失的菌株, 使 DNA 不被甲基化。使用本菌株转化所得到的质粒, 可以被对 *dam*、*dcm* 甲基化敏感的限制酶切割。

另外, *dam*、*recA* 双重突变的菌株是致死的, 本菌株为 *recA*⁺ 菌株。因此, 易与带有同源序列的外源 DNA 发生重组。本制品只适用于转化已经构筑好的质粒, 而不适用于常规的克隆转化。

● 制品内容

| | |
|--|-------------|
| <i>E. coli</i> HST04 <i>dam</i> ⁻ / <i>dcm</i> ⁻ Competent Cells | 100 μl × 10 |
| pUC19 plasmid (0.1 ng/μl) | 10 μl |
| SOC Medium* | 1 ml × 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 对照质粒来确认保存细胞的转化效率。不能液氮保存。

● 使用方法

质粒载体转化

1. *E. coli* HST04 *dam*⁻/*dcm*⁻ Competent Cells 使用前在冰上融化。
2. 轻微混合, 将 100 μl 装入 14 ml 圆底 tube 中 (Falcon tube)。不能通过振荡方式来混匀细胞。
3. 加入质粒 DNA (建议 ≤ 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 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. 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 μl 感受态细胞时, 加入的高纯度质粒 DNA 不要超过 10 ng。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 : Ingredient per liter water

| | |
|---------------|------|
| Tryptone | 10 g |
| Yeast extract | 5 g |
| NaCl | 5 g |

 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: 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, 使体系终体积为 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%, 使体系终体积为 1 L, 高压灭菌。
6. 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

转入 1 ng 的 pUC19 plasmid, 涂于含有 ampicillin 的 L-plate 进行筛选。
转化效率 : $> 1 \times 10^6$ colonies/ μ g pUC19 plasmid

● Genotype

E. coli HST04 *dam*⁻/*dcm*⁻:
F⁻, *ara*, Δ (*lac* -*proAB*) [Φ 80d *lacZ* Δ M15], *rpsL* (*str*), *thi*, Δ (*mrr*-*hsdRMS*-*mcrBC*),
 Δ *mcrA*, *dam*, *dcm*

● 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

pUC118 DNA (Code No. 3318)
pUC119 DNA (Code No. 3319)
Endonuclease cut pUC118 DNA (BAP treated) (Code No. 3320-3324)

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