

Code No. 9051

研究用

TaKaRa

E. coli HB101
Competent Cells

说明书

目 录

内 容	页 码
● 制品内容	1
● 保 存	2
● 制品说明	1
● 使用方法	1
● 注意事项	1
● 转化效率	2
● Genotype	2
● 细胞浓度	2
● 参考文献	2

● 制品内容

<i>E. coli</i> HB101 Competent Cells	100 μ l \times 10
pBR322 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

NOTE: 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 pBR322 对照质粒来确认细胞的转化效率。不能液氮保存。

● 制品说明

在 Hanahan's method 基础上进行了改良, 制备出 Competent Cells, 当 1 ng pBR322 转化 100 μ l 细胞时, 转化效率 $>1 \times 10^8$ cfu/ μ g。

E. coli HB101 Competent Cells 可用来制作 DNA 文库或重组质粒的亚克隆。

● 使用方法 (质粒载体转化)

1. *E. coli* HB101 Competent Cells 使用前在冰上融化。
2. 融解后, 轻轻混合感受态细胞, 并将 100 μ l 细胞转移到 14 ml 圆底管 (例如 Falcon 管等) 中。
3. 加入 $< 10 \mu$ l 的质粒 DNA 样品 (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。

* 对于 9 cm 平板, 不超过 100 μ l。

● 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. 对于转化, 可以使用 1.5 ml 微量离心管代替 14 ml 圆底管 (BD Code: 352059 或 352057 等), 但转化效率可能会降低。
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. 当改变实验规模时, 适当调整反应条件。
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 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 pH 到 7.5 并高压灭菌。

6. 稀释转化混合物时，使用“使用方法”中步骤 7 中添加的培养基。
7. 一旦感受态细胞解冻，不建议重新冷冻储存。如果不可避免，应用干冰/乙醇快速冷冻细胞，并在-80°C下迅速保存。但是，转化效率将会降低。

● 转化效率

转入 1 ng 的 pBR322，涂于含有 Amp⁺的选择培养基进行筛选。

转化效率：≥1 × 10⁸ cfu / μg pBR322

● Genotype

E. coli HB101:

F⁻, *hsd S* 20(rB⁻, mB⁻), *recA13*, *ara-14*, *proA2*, *lacY1*, *galK2*, *rpsL20* (str), *xyt-5*, *mtl-1*, *supE44*, *leuB6*, *thi-1*.

● 细胞浓度

1-2 × 10⁹ bacteria/ml

● 参考文献

Hanahan D. *J Mol Biol.* (1983)**166**: 557.

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: <http://www.takarabiomed.com.cn>