

HB101 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL1060)

HB101 Competent Cell	100μl /支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件 (保质期):	-80°C (6个月)

● 基因型

F- *mcrB mrr hsdS20*(r_B⁻ m_B⁻) *recA13 leuB6 ara-14 proA2 lacY1 galK2 xyl-5 mtl-1 rpsL20* (str^R) *glnV44λ*

● 产品说明

HB101 菌株是 *E. Coli* K12 菌株和 *E. Coli* B 菌株的杂合产物 (同时也是 Stbl3 的原始菌株)。 *recA13* 突变可有效抑制长片段末端重复区的重组, 降低错误重组的概率; 但不含核酸酶 *endA1* 突变, 体内核酸酶含量较高, 提取质粒时务必使用质粒提取试剂盒中去蛋白液。 *hsdS20* 背景使 HB101 缺失内切酶系统, 增强了外源 DNA 的稳定性和提取质量; 此菌株具有链霉素抗性; 不存在 *lac^RZΔM15*, 不可用于蓝、白斑筛选。 HB101 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 > 5 × 10⁸ cfu/μg DNA。

● 操作方法

1. HB101 感受态细胞从 -80°C 拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打), 冰中静置 25 分钟。
2. 42°C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰上并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μl 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB), 混匀后 37°C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体, 留取 100 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。

● 注意事项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化, 插入冰中 8 分钟内加入目标 DNA, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。
2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作。
3. 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 若要获得大量, 高纯度质粒, 建议在 TB 培养基 (唯地 CAT#: CM1018L) 中摇菌培养 (以标准质粒 PUC19 为例: 在 TB 营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为 LB 的 3-4 倍, SOC 的 2 倍)