

## 「Appendix」



第7章 目录	7-1
→ 主要大肠杆菌的基因型	7-2
→ 遗传 Marker	7-4
→ DNA 片段的泳动 凝胶电泳 聚丙烯酰胺凝胶电泳	7-6
→ 遗传密码·氨基酸省略符号表	7-8
→ 计算式·换算式 寡聚核苷酸 Tm 值的计算公式 寡聚核苷酸摩尔数的计算公式 各种换算式	7-8
→ 基因工程中常用的培养基和试剂组成	7-9
→ TOYOBO 常见问题 Q&A	7-11

INDEX

# 主要大肠杆菌的基因型

Strain	Genotype
AG1	<i>endA1, gyrA96, hsdR17</i> (r <sub>K</sub> <sup>-</sup> m <sub>K</sub> <sup>+</sup> ), <i>recA1, relA1, supE44, thi-1, F<sup>-</sup></i>
BB4	<i>galK2, galT22, hsdR514</i> (r <sub>K</sub> <sup>-</sup> m <sub>K</sub> <sup>+</sup> ), <i>lacY1, mcrA<sup>-</sup>, metB1, supE44, supF58, trpR55, Δ(arg F-lac)U169, F<sup>'</sup> [proAB, lac<sup>q</sup> Z ΔM15, Tn10]</i>
BL21	<i>E. coli B, F<sup>-</sup>, dcm, ompT, hsdS</i> (r <sub>B</sub> <sup>-</sup> m <sub>B</sub> <sup>-</sup> ), <i>gal</i>
BL21(DE3)	<i>E. coli B, F<sup>-</sup>, dcm, ompT, hsdS</i> (r <sub>B</sub> <sup>-</sup> m <sub>B</sub> <sup>-</sup> ), <i>gal, λ</i> (DE3)
BL21(DE3)pLysS	<i>E. coli B, F<sup>-</sup>, dcm, ompT, hsdS</i> (r <sub>B</sub> <sup>-</sup> m <sub>B</sub> <sup>-</sup> ), <i>gal, λ</i> (DE3)[pLysS, Cam <sup>r</sup> ]
BL21-CodonPlus-RIL	<i>E. coli B, F<sup>-</sup>, ompT, hsdS</i> (r <sub>B</sub> <sup>-</sup> m <sub>B</sub> <sup>-</sup> ), <i>dcm<sup>+</sup>, Tet<sup>r</sup>, gal, endA, Hte, [argU, ileY, leuW, Cam<sup>r</sup>]</i>
BL21-CodonPlus(DE3)-RIL	<i>E. coli B, F<sup>-</sup>, ompT, hsdS</i> (r <sub>B</sub> <sup>-</sup> m <sub>B</sub> <sup>-</sup> ), <i>dcm<sup>+</sup>, Tet<sup>r</sup>, gal, λ</i> (DE3), <i>endA, Hte, [argU, ileY, leuW, Cam<sup>r</sup>]</i>
BL21-CodonPlus(DE3)-RIL-X	<i>E. coli B, F<sup>-</sup>, ompT, hsdS</i> (r <sub>B</sub> <sup>-</sup> m <sub>B</sub> <sup>-</sup> ), <i>dcm<sup>+</sup>, Tet<sup>r</sup>, gal, λ</i> (DE3), <i>endA, Hte, metA::Tn5(Kan<sup>r</sup>), [argU, ileY, leuW, Cam<sup>r</sup>]</i>
BL21-CodonPlus-RP	<i>E. coli B, F<sup>-</sup>, ompT, hsdS</i> (r <sub>B</sub> <sup>-</sup> m <sub>B</sub> <sup>-</sup> ), <i>dcm<sup>+</sup>, Tet<sup>r</sup>, gal, endA, Hte, [argU, proL, Cam<sup>r</sup>]</i>
BL21-CodonPlus(DE3)-RP	<i>E. coli B, F<sup>-</sup>, ompT, hsdS</i> (r <sub>B</sub> <sup>-</sup> m <sub>B</sub> <sup>-</sup> ), <i>dcm<sup>+</sup>, Tet<sup>r</sup>, gal, λ</i> (DE3), <i>endA, Hte, [argU, proL, Cam<sup>r</sup>]</i>
BL21-CodonPlus(DE3)-RP-X	<i>E. coli B, F<sup>-</sup>, ompT, hsdS</i> (r <sub>B</sub> <sup>-</sup> m <sub>B</sub> <sup>-</sup> ), <i>dcm<sup>+</sup>, Tet<sup>r</sup>, gal, λ</i> (DE3), <i>endA, Hte</i>
BL21-Gold	<i>E. coli B, F<sup>-</sup>, ompT, hsdS</i> (r <sub>B</sub> <sup>-</sup> m <sub>B</sub> <sup>-</sup> ), <i>dcm, Tet<sup>r</sup>, gal, endA, Hte</i>
BL21-Gold(DE3)	<i>E. coli B, F<sup>-</sup>, ompT, hsdS</i> (r <sub>B</sub> <sup>-</sup> m <sub>B</sub> <sup>-</sup> ), <i>dcm, Tet<sup>r</sup>, gal, endA, Hte, λ</i> (DE3)
BL21-Gold(DE3)pLysS	<i>E. coli B, F<sup>-</sup>, ompT, hsdS</i> (r <sub>B</sub> <sup>-</sup> m <sub>B</sub> <sup>-</sup> ), <i>dcm, Tet<sup>r</sup>, gal, endA, Hte, λ</i> (DE3) [pLysS Cam <sup>r</sup> ]
BM25.8	<i>supE44, thi, Δ(lac-proAB), [F<sup>'</sup> traD36, proAB<sup>+</sup>, lac<sup>q</sup>Z ΔM15], λimm434 (Kan), P1(Cam<sup>r</sup>), hsdR</i> (r <sub>K12</sub> -m <sub>K12</sub> -)
C600	<i>F<sup>-</sup>, thi-1, thr-1, leuB6, lacY1, tonA21, supE44, λ<sup>-</sup></i>
C600(BNN93)	<i>lacY1, leuB6, mcrB<sup>+</sup>, supE44, thi-1, thr-1, tonA21, F<sup>-</sup></i>
C600 hfl(BNN102)	<i>hflA150</i> [Chr::Tn10], <i>lacY1, leuB6, mcrB<sup>-</sup>, supE44, thi-1, thr-1, tonA21, F<sup>-</sup></i>
DH1	<i>endA1, gyrA96, hsdR17</i> (r <sub>K</sub> <sup>-</sup> m <sub>K</sub> <sup>+</sup> ), <i>recA1, relA1, supE44, thi-1, F<sup>-</sup></i>
DH5	<i>desRendA1, gyrA96, hsdR17, recA1, supE44, relA1, thi-1</i>
DH5α	<i>deoR, endA1, gyrA96, hsdR17</i> (r <sub>K</sub> <sup>-</sup> m <sub>K</sub> <sup>+</sup> ), <i>recA1, relA1, supE44, thi-1, Δ(lac ZYA-argF)U169, φ80lacZ ΔM15, F<sup>-</sup>, λ<sup>-</sup></i>
DP50, supF	<i>F<sup>-</sup>, tonA53, dapD8, lacY1, glnV44</i> (supE44), <i>Δ(gal-uvrB)47, λ<sup>-</sup>, tyrF58</i> (supT58), <i>gyrA29, Δ(thyA57), hsdS3</i>
Electro Ten-Blue™	<i>Δ(mcrA)183, Δ(mcrCB-hsdSMR-mrr)173, endA1, supE44, thi-1, recA1, gyrA96, relA1, lac, Kan<sup>r</sup>, Hee, [F<sup>'</sup>, proAB, lac<sup>q</sup>Z ΔM15, Tn10 (Tet<sup>r</sup>)]</i>
HB101	<i>F<sup>-</sup>, hsdS20</i> (r <sub>B</sub> <sup>-</sup> , m <sub>B</sub> <sup>-</sup> ), <i>recA13, ara-14, proA2, lacY1, galK2, rpsL20</i> (Sm <sup>r</sup> ), <i>xyl-5, mtl-1, supE44, λ<sup>-</sup></i>
JM83	<i>araΔ(lac-proAB), rpsL, φ80lacZ ΔM15</i>
JM101	<i>supE, thi-1, Δ(lac-proAB), [F<sup>'</sup>, traD36, proAB, lac<sup>q</sup>Z ΔM15]</i>
JM105	<i>thi-1, rpsL, endA, sbcBC, hsdR4 Δ(lac-proAB), [F<sup>'</sup> traD36, proAB, lac<sup>q</sup>Z ΔM15]</i>
JM106	<i>e14<sup>-</sup> (McrA<sup>-</sup>), endA1, gyrA96, thi-1, hsd R17, supE44, relA1, Δ(lac-proAB)</i>
JM107	<i>e14<sup>-</sup> (McrA<sup>-</sup>), Δ(lac-proAB), thi-1, gyrA96, endA1, hsdR17, relA1, supE44, [F<sup>'</sup>, traD36, proAB lac<sup>q</sup>Z ΔM15]</i>
JM108	<i>e14<sup>-</sup> (McrA<sup>-</sup>), recA1, endA1, gyrA96, thi-1, hsdR17, supE44, relA1, Δ(lac-proAB)</i>
JM109	<i>e14<sup>-</sup> (McrA<sup>-</sup>), recA1, endA1, gyrA96, thi-1, hsdR17</i> (r <sub>K</sub> <sup>-</sup> , m <sub>K</sub> <sup>+</sup> ), <i>supE44, relA1, Δ(lac-proAB), [F<sup>'</sup>, traD36, proAB, lac<sup>q</sup>Z ΔM15]</i>
JM110	<i>rpsL</i> (Str <sup>r</sup> ), <i>thr, leu, thi-1, lacY, galK, galT, ara, tonA, tsx, dam, dcm, supE44, Δ(lac-proAB), [F<sup>'</sup>, traD36, proAB, lac<sup>q</sup>Z ΔM15]</i>
K802	<i>e14<sup>-</sup> (McrA<sup>-</sup>), mcrB1, hsdR2, galK2, galT22, supE44, metB1</i>
K803	<i>galK2, galT22, hsd S3</i> (r <sub>K</sub> <sup>-</sup> , m <sub>K</sub> <sup>+</sup> ), <i>lacY1, metB1, mrr<sup>+</sup>, supE44, F<sup>-</sup></i>
LE392	<i>F<sup>-</sup>, hsdR514</i> (r <sub>K</sub> <sup>-</sup> , m <sub>K</sub> <sup>+</sup> ), <i>supE44, supF58, lacY1 or Δ(lacZY)6, galK2, galT22, metB1, trpR55, λ<sup>-</sup></i>
MM294	<i>endA1, hsdR17</i> (r <sub>K</sub> <sup>-</sup> m <sub>K</sub> <sup>+</sup> ), <i>supE44, thi-1, F<sup>-</sup></i>
MV1184	<i>ara<sup>-</sup>, Δ(lac-proAB), Δ(srl-recA)306:: Tn10, φ80d/lacZ ΔM15, rpsL<sup>-</sup>, thr<sup>-</sup>, [F<sup>'</sup>, lac<sup>q</sup>/lacZ ΔM15, proAB, traD36]</i>
MV1190	<i>Δ(lac-proAB), Δ(srl-recA)306:: Tn10, supE, thi<sup>-</sup>, [F<sup>'</sup>, lac<sup>q</sup>/lacZ ΔM15, proAB, traD36]</i>
MV1304	<i>Δ(lac-proAB), Δ(srl-recA)306:: Tn10, endA, hsdR5, rpsL, sbcB15, thi, [F<sup>'</sup>, lac<sup>q</sup>/lacZ ΔM15, proAB, traD36]</i>
NM538	<i>F<sup>-</sup>, hsdR</i> (r <sub>K</sub> <sup>-</sup> , m <sub>K</sub> <sup>+</sup> ), <i>lacY, φ80r, supE, supF, trpR</i>
NM539	<i>hsdR</i> (P2 COZ), <i>supF</i>
NM522	<i>Δhsd5</i> (r <sub>K</sub> <sup>-</sup> m <sub>K</sub> <sup>+</sup> ), <i>supE, thi-1, Δ(lac-proAB), F<sup>'</sup> [proAB, lac<sup>q</sup>Z ΔM15]</i>
NM554	<i>recA13, araD139, Δ(ara-leu)7696, Δ(lac)17A, galU, galK, hsdR, rpsL</i> (Str <sup>r</sup> ), <i>mcrA, mcrB</i>
P2392	<i>hsdR514</i> (r <sub>K</sub> <sup>-</sup> m <sub>K</sub> <sup>+</sup> ), <i>supE44, supF58, lacY, galK2, galT22, metB1, trp55, mcrA</i> (P2)
P2PLK-17	<i>PLK-17</i> (P2 lysogen)



Strain	Genotype
PLK-17	e14 <sup>-</sup> ( <i>McrA</i> <sup>-</sup> ), <i>mcrB1</i> , <i>lac</i> , <i>hsdR2</i> ( <i>r<sub>k</sub>-m<sub>k</sub></i> <sup>+</sup> ), <i>supE44</i> , <i>galK2</i> , <i>galT22</i> , <i>metB1</i>
PLK-F <sup>+</sup>	e14 <sup>-</sup> ( <i>McrA</i> <sup>-</sup> ), <i>mcrB1</i> , <i>recA</i> , <i>lac</i> , <i>hsdR2</i> ( <i>r<sub>k</sub>-m<sub>k</sub></i> <sup>+</sup> ), <i>supE44</i> , <i>galK2</i> , <i>galT22</i> , <i>metB1</i> , [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn10(Tet <sup>r</sup> )]
Q358	<i>hsdR<sub>k</sub></i> <sup>-</sup> , <i>hsdM<sub>k</sub></i> <sup>+</sup> , <i>supE</i> , φ80
Q359	<i>hsdR<sub>k</sub></i> <sup>-</sup> , <i>hsdM<sub>k</sub></i> <sup>-</sup> , <i>supE</i> , φ80, P2
RR1	Δ( <i>gpt-proA</i> )62, <i>leuB6</i> , <i>thi-1</i> , <i>lacY1</i> , <i>hsdS<sub>6</sub></i> 20, <i>rpsL20</i> (Str <sup>r</sup> ), <i>ara-14</i> , <i>galK2</i> , <i>xyl-5</i> , <i>mtl-1</i> , <i>supE44</i> , <i>mcrB<sub>6</sub></i>
SCSI	<i>endA1</i> , F <sup>-</sup> , <i>gyrA96</i> , <i>hsdR17</i> ( <i>r<sub>k</sub>-m<sub>k</sub></i> <sup>+</sup> ), λ <sup>-</sup> , <i>recA1</i> , <i>relA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i>
SOLR™	e14 <sup>-</sup> ( <i>McrA</i> <sup>-</sup> ), Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )171, <i>sbcC</i> , <i>recB</i> , <i>recJ</i> , <i>uvrC</i> , <i>umuC</i> , ::Tn5(Kan <sup>r</sup> ), <i>lac</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>thi-1</i> , <i>endA1</i> , λ <sup>r</sup> , [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15] <sup>c</sup> Su <sup>-</sup> (nonsuppressing)
SoloPack® Gold	Tet <sup>r</sup> , Δ( <i>mcrA</i> )183, Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )173, <i>endA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i> , <i>recA1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> , Hte, [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn10(Tet <sup>r</sup> ), Amy, Cam <sup>r</sup> ]
SRB	e14 <sup>-</sup> ( <i>McrA</i> <sup>-</sup> ), Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )171, <i>sbcC</i> , <i>recJ</i> , <i>uvrC</i> , <i>umuC</i> , ::Tn5(Kan <sup>r</sup> ), <i>supE44</i> , <i>lac</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>thi-1</i> , <i>endA1</i> , [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15]
SRB(P2)	SRB(P2 lysogen)
SURE®	e14 <sup>-</sup> ( <i>McrA</i> <sup>-</sup> ), Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )171, <i>endA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> , <i>recB</i> , <i>recJ</i> , <i>sbcC</i> , <i>umuC</i> , ::Tn5(Kan <sup>r</sup> ), <i>uvrC</i> , [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn10(Tet <sup>r</sup> )]
SURE®2	e14 <sup>-</sup> ( <i>McrA</i> <sup>-</sup> ), Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )171, <i>endA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> , <i>recB</i> , <i>recJ</i> , <i>sbcC</i> , <i>umuC</i> , ::Tn5(Kan <sup>r</sup> ), <i>uvrC</i> , [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn10(Tet <sup>r</sup> ), Amy, Cam <sup>r</sup> ]
TKX1	Δ( <i>mcrA</i> )183, Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )173, <i>endA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i> , <i>recA1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn5(Kan <sup>r</sup> )] [pTK Tet <sup>r</sup> ]
TKB1	F <sup>-</sup> , <i>dcm</i> <sup>-</sup> , <i>ompT</i> , <i>hsdS</i> ( <i>r<sub>6</sub>-m<sub>6</sub></i> <sup>-</sup> ), <i>gal</i> , λ (DE3) [pTK Tet <sup>r</sup> ]
XL1-Blue	<i>recA1</i> , <i>endA1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>thi-1</i> , <i>hsdR17</i> , <i>supE44</i> , <i>recA1</i> , <i>lac</i> , [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn10(Tet <sup>r</sup> )]
XL1-Blue MR	Δ( <i>mcrA</i> )183, Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )173, <i>endA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i> , <i>recA1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i>
XL1-Blue MRA	Δ( <i>mcrA</i> )183, Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )173, <i>endA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i> , <i>recA1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i>
XL1-Blue MRA(P2)	XL1-Blue MRA(P2 lysogen)
XL1-Blue MRF <sup>+</sup>	Δ( <i>mcrA</i> )183, Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )173, <i>endA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i> , <i>recA1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn10(Tet <sup>r</sup> )]
XL1-Blue MRF <sup>+</sup> Kan	Δ( <i>mcrA</i> )183, Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )173, <i>endA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i> , <i>recA1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn5(Kan <sup>r</sup> )]
XL1-Red	<i>endA1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>thi-1</i> , <i>hsdR17</i> , <i>supE44</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> , <i>mutD5</i> , <i>mutS</i> , <i>mutT</i> , Tn10(Tet <sup>r</sup> )
XL2-Blue	<i>recA1</i> , <i>endA1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>thi-1</i> , <i>hsdR17</i> , <i>supE44</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> , [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn10(Tet <sup>r</sup> ), Amy, Cam <sup>r</sup> ]
XL2-Blue MRF <sup>+</sup>	Δ( <i>mcrA</i> )183, Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )173, <i>endA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i> , <i>recA1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn10(Tet <sup>r</sup> ), Amy, Cam <sup>r</sup> ]
XL10-Gold®	Δ( <i>mcrA</i> )183, Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )173, <i>endA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i> , <i>recA1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> , Tet <sup>r</sup> , Hte, [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn10(Tet <sup>r</sup> ), Amy]
XL10-Gold Kan <sup>r</sup>	Tet <sup>r</sup> , Δ( <i>mcrA</i> )183, Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )173, <i>endA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i> , <i>recA1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> , Hte, [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn10(Tet <sup>r</sup> ), Tn5(Kan <sup>r</sup> ), Amy]
XLmutS Kan <sup>s</sup>	Δ( <i>mcrA</i> )183, Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )173, <i>endA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> , <i>mustS</i> ::Tn10(Tet <sup>r</sup> ) [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn5]
XLmutS Kan <sup>r</sup>	Δ( <i>mcrA</i> )183, Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )173, <i>endA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> , <i>mustS</i> ::Tn10(Tet <sup>r</sup> ) [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn5(Kan <sup>r</sup> )]
Y1088	e14 <sup>-</sup> ( <i>McrA</i> <sup>-</sup> ), Δ( <i>lac</i> )U169, <i>supE</i> , <i>supF</i> , <i>hsdR</i> , <i>metB</i> , <i>trpR</i> , <i>tonA21</i> , <i>proC</i> , ::Tn5(Kan <sup>r</sup> ) [pMC9, Amp <sup>r</sup> , Tet <sup>r</sup> ] (Note:pMC9 is pBR322 with <i>lac</i> <sup>q</sup> inserted.)
Y1089	Δ( <i>lac</i> )U169, Δ( <i>lon</i> ), <i>araD139</i> , <i>strA</i> , <i>hflA150</i> , ::Tn10(Tet <sup>r</sup> ) [pMC9, Amp <sup>r</sup> , Tet <sup>r</sup> ] (Note:pMC9 is pBR322 with <i>lac</i> <sup>q</sup> inserted.)
Y1089r-	Y1089, <i>mcrB</i>
Y1090	Δ( <i>lac</i> )U169, Δ( <i>lon</i> ), <i>araD139</i> , <i>strA</i> , <i>supF</i> , <i>mcrA</i> , <i>trpC22</i> , ::Tn10(Tet <sup>r</sup> ) [pMC9, Amp <sup>r</sup> , Tet <sup>r</sup> ] (Note:pMC9 is pBR322 with <i>lac</i> <sup>q</sup> inserted.)
Y1090r-	Y1090, <i>mcrB</i> , <i>hsdR</i>
XL0LR	Δ( <i>mcrA</i> )183, Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )173, <i>endA1</i> , <i>thi-1</i> , <i>recA1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15, Tn10(Tet <sup>r</sup> ), Su <sup>-</sup> (nonsuppressing), λ <sup>r</sup> ]
XPORT	Δ( <i>mcrA</i> )183, Δ( <i>mcrCB-hsdSMR-mrr</i> )173, <i>endA1</i> , <i>supE44</i> , <i>thi-1</i> , <i>recA1</i> , <i>gyrA96</i> , <i>relA1</i> , <i>lac</i> [F <sup>+</sup> , <i>proAB</i> , <i>lac</i> <sup>q</sup> Z ΔM15]



# 遗传 Marker

基因型	特 性
<i>Amp<sup>r</sup></i>	对Ampicillin表现耐性。
<i>ara</i>	arabinose分解能力的缺失。
<i>araC</i>	arabinose;regulatory gene表达的activator和repressor protein缺失。
<i>araD</i>	Arabinose, L-Ribulosephosphate 4-epimerase的缺失。
<i>argF</i>	arginine;ornithine carbamoyltransferase的缺失。
<i>asd</i>	Aspartate semialdehyde dehydrogenase的缺失。
<i>bioH</i>	=bioB, Biotin synthetase的缺失。
<i>Cam<sup>r</sup></i>	对Chloramphenicol表现耐性。
<i>cycA</i>	对D-Cycloserine及D-Serine有抗性。对D-Alanine, D-Serine和Glycine输送能力的缺失。
<i>dam</i>	GATC序列中针对Adenine位点的DNA adenine methylase的缺失型受到此缺失影响的DNA只有在转化成dam <sup>r</sup> 株后才能再次被限制酶酶切。(如Bcl I等)
<i>dapD</i>	Diaminopimelate, Tetrahydrodipicolinate N-succinyltransferase的缺失。
<i>dcm</i>	CCWGG序列中针对Cytosine(C)位点的DNA cytosine methylase的缺失。此序列的甲基化通常导致限制酶(Ava II等)的作用丧失,欲使其再次恢复受这类限制酶的酶切,需先将转化成dam <sup>r</sup> 株,再进行DNA制备。
<i>deoR</i>	Deoxyribose, deo operon控制基因的缺失。
<i>e14</i>	K12株特有的溶原化噬菌体。由于有mcrA基因,故e14 <sup>r</sup> 株同时也表现为McrA <sup>r</sup> 。
<i>endA</i>	非特异性内切酶 I 的缺失。通常认为带有此缺失特性的大肠杆菌所复制的DNA受到损伤较少。
<i>F</i>	低拷贝的性因子质粒。
<i>fhvA</i>	Ferric hydroxamate uptake, Fe-Cr, Colicin等外膜受体的缺失。
<i>galK</i>	galactose;galactokinase的缺失。
<i>galT</i>	galB Galactose, galactose-1-phosphate uridylytransferase的缺失。
<i>galU</i>	galactose;glucose-1-phosphate uridylytransferase的缺失。
<i>gpt</i>	Guanine-hypoxanthine phosphoribosyltransferase的缺失。
<i>gyrA</i>	DNA gyrase(subunit A)的缺失。对nalA, nalidixic acid具有感受性。
Hee	High Electroporation Efficiency.
<i>hfl</i>	λ phage溶原化频度的上升;特定的protease的缺失。
<i>hsd</i>	大肠杆菌与酶切特性有关的基因型hostspecificity defective的省略表示。EcoK(或EcoB)株对由这2个对应基因的任何1个导致的未被甲基化的DNA(hsds)将视为外敌而予以酶切破坏。hsdR变异失去了酶切特性但仍保持受保护的甲基化特性(rm <sup>r</sup> )。另一方面,hsds变异却是两者都发生了缺失(rm <sup>r</sup> )。
<i>hsdM</i>	宿主特异性的缺失。DNA Methylase的缺失。
Hte	High Transformation Efficiency.
<i>Kan<sup>r</sup></i>	对Kanamycine表现耐性。
<i>lacI<sup>q</sup></i>	Lactose,Lactose Repressor过度表达株。更彻底地抑制了Lactose Promotor引发的表达。
<i>lacI</i>	lactose;regulatory gene表达的lac operon及repressor protein的缺失。
<i>lacY</i>	Lactose,Lactose Permease的缺失。
<i>lacZ</i>	Lactose, β-Galactosidase的缺失。
<i>lacZ ΔM15</i>	β-galactosidase部分的缺失导致的β-galactosidase的α-complementation。
<i>leuB</i>	Leucine, β-isopropylmalate dehydrogenase的缺失。
<i>lon</i>	Long form, 破坏异型蛋白的分解酶的缺失型。此缺失型株内的某些真核生物蛋白质可在一定程度上受到保护而免于被分解,可以更稳定地进行扩增。
<i>mcr</i>	methyl cytosine restriction,某些特定的碱基序列被甲基化时,可仍被Mcr <sup>r</sup> 酶切攻击。Δ(mcrC-mrr)则表示以下6个连续基因的缺失:mcrC-mcrB-hsdB-hsdM-hsdR-mrr。
<i>metB</i>	Methionine, cystathionine γ-synthase的缺失。
<i>minB</i>	Minicell,可观察到不含DNA的小细胞的形成。
<i>mrr</i>	大肠杆菌与酶切特性有关的基因型methylation requiring restriction的省略表示。仅对Cytosine或adenine位点受到甲基化的DNA进行酶切破坏。未发现有共通的含甲基化位点碱基序列。
<i>mtl</i>	mannitol分解能力的缺失。
<i>mtID</i>	Mannitol, Mannitol-1-phosphate dehydrogenase的缺失。
<i>proA</i>	Proline, γ-glutamyl phosphate reductase的缺失。



基因型	特 性
<i>proAB</i>	proline要求性的缺失。
<i>rec</i>	Recombination: 相同重组限制酶切特性有关的大肠杆菌基因型统称, 主要有以下类型。 <i>recA</i> : 相同重组系( <i>lexB</i> , <i>recH</i> , <i>rnmB</i> , <i>tif</i> , <i>umuB</i> , <i>zab</i> )的缺失, 对处理50bp以上的反复序列DNA片断时有用。 <i>recBC</i> : 外切酶V重组活性的缺失, 在 <i>recB</i> -中, 相同重组不易发生, 故反向重复序列可稳定存在, 但质粒体的复制有时会发生些问题。 <i>recD</i> : <i>ExoV</i> (2 subunit) 的外切酶活性的缺失, 但重组活性正常, $\lambda$ 噬菌体的反向重复序列可正常进行扩增。
<i>relA</i>	Relaxed, RNA体内合成的抑制。ATP: GTP 3' -pyrophosphotransferase的缺失。
<i>rfa</i>	Rough, ribopolysaccharide合成路线的缺失。
<i>rfbD</i>	Rough, 一群 <i>rfa</i> , <i>rfb</i> 基因中, TDP-rhamnose synthetase的缺失。
<i>rpsL</i>	Ribosomal protein, small: <i>strA</i> (Streptomycin耐性), 30S ribosomal subunit protein S12的缺失。
Str <sup>r</sup>	对Streptomycin有耐性。
<i>supE</i>	Suppressor, ochre(UAG)变异的supressor变异。
<i>supF</i>	Suppressor, amber(UAG)变异的supressor变异。
Tet <sup>r</sup>	对Tetracycline有耐性。
<i>thi-1</i>	thiamine thiazole要求性的缺失。
<i>thiB</i>	Thiamin, Thiaminphosphate pyrophosphorylase的缺失。
<i>thr</i>	threonine要求性的缺失。
<i>thrC</i>	Threonine, Threonine synthase的缺失。
<i>thyA</i>	Thymine, Thymidilate synthetase的缺失。
Tn10	Transposon 10. transposon。
<i>tonA</i>	用来对付ferrichrome, colicin M. phage T1·T5· $\phi$ 80的outer membrane protein的缺失。
<i>tonB</i>	对colicin, phage T1· $\phi$ 80耐性的缺失。
<i>traD</i>	Transmissibility, F因子自我输送能力的显著降低。
<i>trpR</i>	Tryptophan, trp operon及 <i>aroH</i> (aromatic:tryptophan repressible DAHP synthase)制御的缺失。
<i>tsx</i>	对phage T6及colicinK有耐性。
<i>xylA</i>	Xylose, D- Xylose isomerase的缺失。
$\Delta$	基因的缺失。
$\Delta lon$	fusion protein的稳定化; <i>lon</i> protease的缺失。

参考文献: 绪方宣邦、野岛博, 《基因工学》, 羊土社 (1996)

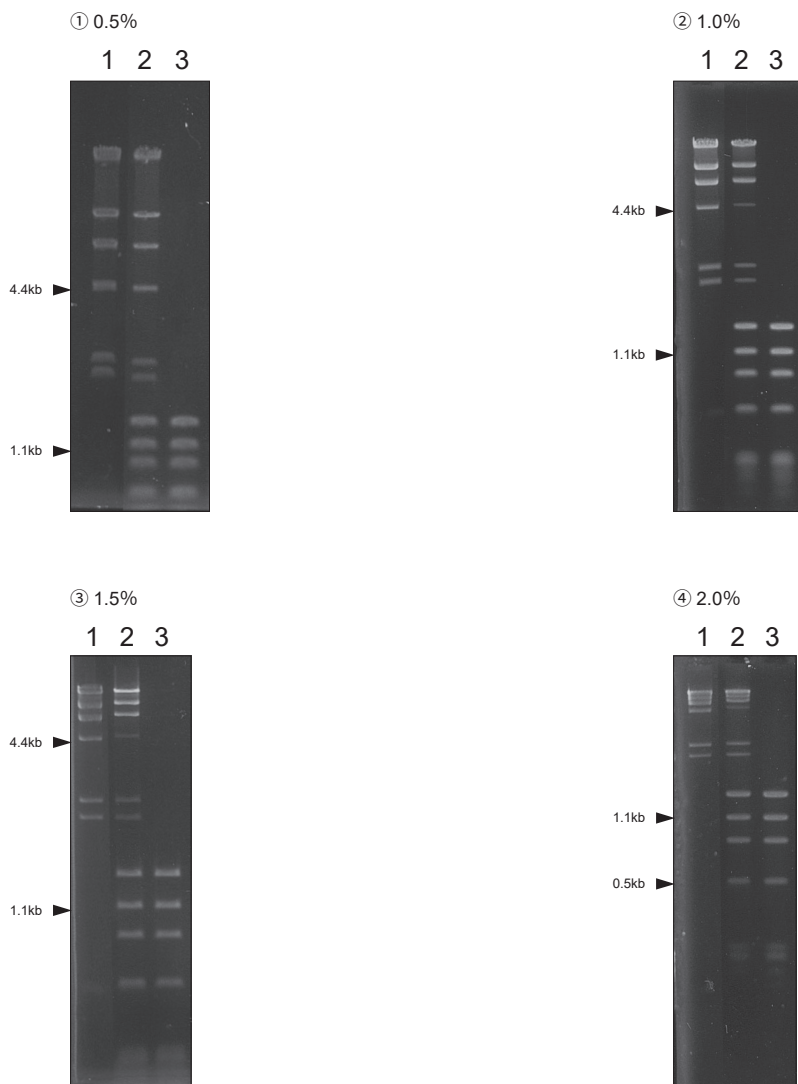


# DNA 片段的泳动

→ 凝胶电泳 (使用 1 × TBE Buffer)

## ① 参照以下图片

Lane 1; Loading Quick  $\lambda$  / *Hind* III  
 Lane 2; Loading Quick  $\lambda$  / *Hind* III -  $\phi$  X174 / *Hae* III  
 Lane 3; Loading Quick  $\phi$  X174 / *Hae* III



## ② 不同的凝胶浓度所对应的适合分析的 DNA 片段长度。

凝胶浓度	DNA 片段长度范围
0.3%	60~5 kb
0.6	20~1
0.7	10~0.8
0.9	7~0.5
1.2	6~0.4
1.5	4~0.2
2.0	3~0.1

## ③ 在凝胶电泳中与色素 marker 具有同样迁移率的 DNA 片段长度 (碱基对) 凝胶浓度: 0.5~1.4%

Orange G	BPB	XC
约 50bp	~300bp	~4,000bp

### 参考文献

1. R. T. Maniatis, E. F. Fritsch and J. Sambrook. *Molecular Cloning—A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York. (1982)





→ 丙烯酰胺凝胶电泳

① 不同的聚丙烯酰胺凝胶浓度所对应的适合分析的 DNA 片段长度。

聚丙烯酰胺凝胶电泳	DNA 片段长度范围
3.5%	100~1000bp
5.0	80~500
8.0	60~400
12.0	40~200
20.0	10~100

② 在聚丙烯酰胺电泳中与色素 marker 具有同样迁移率的片段长度(碱基对)

聚丙烯酰胺凝胶	BPB	XC
3.5%	100 bp	400 bp
5.0	65	200
8.0	45	160
12.0	20	70
20.0	12	45

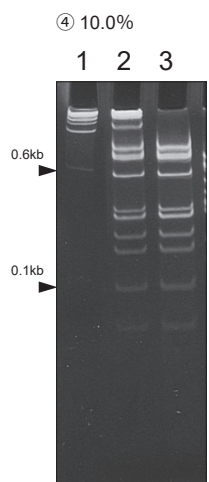
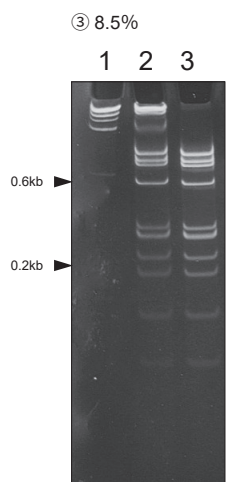
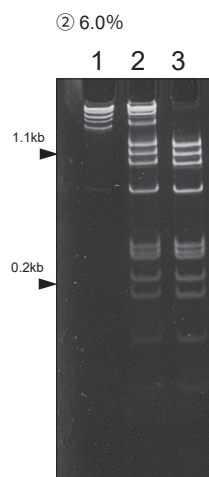
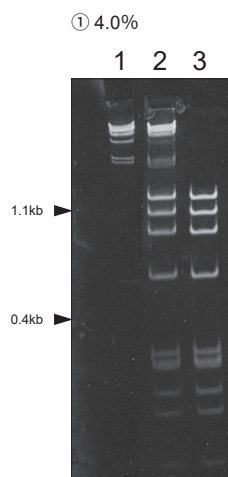
③ 在变性聚丙烯酰胺电泳中与色素 marker 具有同样迁移率的 DNA 片段长度(碱基对)

聚丙烯酰胺凝胶	BPB	XC
5.0%	35 bp	130 bp
6.0	20	100
8.0	19	70~80
10.0	12	55
20.0	8	28

参考文献

1.R. T. Maniatis, E. F. Fritsh and J. Sambrook. *Molecular Cloning—A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York. (1982)

④ 以下电泳图片各泳道的样品同前页 (7-6 页)。



# 遗传密码 • 氨基酸省略符号表

## → 遗传密码

	U	C	A	G
U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys
	UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys
	UUA Leu	UCA Ser	UAA Ochre	UGA Opal
	UUG Leu	UCG Ser	UAG Amber	UGG Trp
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg
	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg
	CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg
	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg
A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser
	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser
	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg
	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg
G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly
	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly
	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly
	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly

## → 氨基酸省略符号

氨基酸	3 个字母	1 个字母
Glycine	Gly	G
Alanine	Ala	A
Valine	Val	V
Leucine	Leu	L
Isoleucine	Ile	I
Serine	Ser	S
Threonine	Thr	T
Aspartic Acid	Asp	D
Glutamic Acid	Glu	E
Asparagine	Asn	N
Glutamine	Gln	Q
Lysine	Lys	K
Arginine	Arg	R
Cysteine	Cys	C
Methionine	Met	M
Phenylalanine	Phe	F
Tyrosine	Tyr	Y
Tryptophan	Trp	W
Histidine	His	H
Proline	Pro	P

# 计算式 • 换算式

## → 寡聚核苷酸 Tm 值的计算公式

寡聚核苷酸 Tm 值的计算:

①寡聚核苷酸长度小于 18bp 时

$$Tm = (A + T) \times 2^{\circ}C + (G + C) \times 4^{\circ}C$$

②寡聚核苷酸长度大于 18bp 时

$$Tm = 81.5 + 16.6 (\log_{10} [Na^+]) + 0.41 (\% G + C) - (600/N)$$

- ※ A : 寡核苷酸中 A 的数目
- C : 寡核苷酸中 C 的数目
- G : 寡核苷酸中 G 的数目
- T : 寡核苷酸中 T 的数目
- % G + C : 寡核苷酸中 G + C 的%
- N : 寡核苷酸的长度 (mer)
- [Na<sup>+</sup>] : 溶液中 Na<sup>+</sup> 浓度 (M)

## → 寡聚核苷酸摩尔数的计算公式

利用脱氧核苷酸的吸光系数来计算

$$\text{mole } [pmol / \mu l] = \frac{E_{260} \times 100}{A \times 1.54 + C \times 0.75 + G \times 1.17 + T \times 0.92}$$

- ※A: 寡核苷酸中 A 的数目
- C: 寡核苷酸中 C 的数目
- G: 寡核苷酸中 G 的数目
- T: 寡核苷酸中 T 的数目

## → 各种换算式

$$1 \mu g = 1 \gamma = 10^{-6} g$$

$$1 ng = 10^{-9} g$$

$$1 pg = 10^{-12} g$$

$$1 kb \text{ double stranded DNA } (Na^+) = 6.6 \times 10^5 \text{ daltons}$$

$$1 kb \text{ single stranded DNA } (Na^+) = 3.3 \times 10^5 \text{ daltons}$$

$$1 kb \text{ single stranded RNA } (Na^+) = 3.4 \times 10^5 \text{ daltons}$$

$$1 kb \text{ DNA} = 333 - \text{amino acid coding capacity}$$

$$\text{average mass of amino acid} = 126.7 \text{ daltons}$$

$$10,000 \text{ dalton protein} = 270 bp \text{ DNA}$$

$$1 \mu g/ml \text{ of nucleic acid} = 3.0 \mu M \text{ phosphate}$$

$$1 \mu g/ml \text{ of a } 1 kb \text{ nucleic acid} = 3.08 nM \text{ end concentration}$$

$$1 pmol \text{ of a } 1 kb \text{ DNA} = 0.66 \mu g$$

$$1 \text{ mole of linear pBR322 DNA} = 2.8 \times 10^6 g$$

$$1 pmole \text{ of linear pBR322 DNA} = 2.8 \mu g$$

$$1 \text{ O. D. double stranded DNA} = A_{260} \text{ of } 1.0 = 50 \mu g/ml$$

$$1 \text{ O. D. single stranded DNA} = A_{260} \text{ of } 1.0 = 37 \mu g/ml$$

$$1 \text{ O. D. single stranded RNA} = A_{260} \text{ of } 1.0 = 40 \mu g/ml$$

oligonucleotide

$$15mer \ 50ng = 10pmoles$$

$$17mer \ 56ng = 10pmoles$$

$$20mer \ 66ng = 10pmoles$$

$$24mer \ 80ng = 10pmoles$$





# 基因工程中常用的培养基和试剂组成

## 〈培养基〉

<b>★LB培养基</b>	
polypeptone	10 g
yeast extract	5 g
NaCl	10 g
(agar	15 g)(pH7.4)
	1 L autoclave
<b>★2×YT培养基</b>	
polypeptone	16 g
yeast extract	10 g
NaCl	5 g
(agar	15 g)(pH7.2)
	1 L autoclave
<b>★蓝白菌落选择培养基</b>	
polypeptone	10 g
yeast extract	5 g
NaCl	5 g
(agar	15 g)(pH7.4)
	1 L autoclave
100mM IPTG	1 ml
25mg/ml Amp.	1 ml
2%×-gal	2 ml
	冷却后混合。
<b>★MMI培养基</b>	
bacto tryptone	12.5 g
bacto yeast extract	2.5 g
NaCl	8.5 g
1M Tris-HCl(pH7.2)	20 ml
glycerol	4 ml(pH7.2)
	1 L autoclave
<b>★Super broth培养基</b>	
tryptone	3.2 g
yeast extract	20 g
NaCl	5 g
1N NaOH	5 ml
	1 L autoclave
<b>★M9培养基</b>	
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	8 g
NaCl	0.5 g
NH <sub>4</sub> Cl	1 g
(agar	15 g)
	500 ml autoclave
1M MgSO <sub>4</sub>	1 ml
2M Glucose	5.6 ml
1% VitaminB <sub>1</sub> (Thiamine)	1 ml
1M CaCl <sub>2</sub>	0.1 ml
	分别灭菌(Thiamine进行过滤灭菌), 经过冷却再混合。
<b>★SOC培养基</b>	
bacto tryptone	20 g
bacto yeast extract	5 g
1M NaCl	10 ml
1M KCl	2.5 ml(pH 7.4)
	1 L autoclave
1M MgSO <sub>4</sub>	10 ml
1M MgCl <sub>2</sub>	10 ml
2M Glucose	10 ml
	分别灭菌, 冷却后混合。
<b>★NZY培养基</b>	
NaCl	5 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2 g
yeast extract	5 g
NZ amine(casein hydrolysate)	10 g
(agar	15 g)(pH 7.5)
	1 L autoclave
<b>★YPD培养基</b>	
Difco peptone	20 g
yeast extract	10 g
(agar	15 g)(pH 5.8)
	1 L autoclave
40% dextrose	50 g
	分别灭菌, 冷却(55~56℃)后混合。

## 〈RNA抽提 AGPC法〉

<b>★Solution D</b>	
Guanidium thiocyanate	25 g /50ml
0.75M-Sodium Citrate(pH7.0)	0.76ml/
10%(W/V)Sodium N-Lauroyl Sarcosinate	2.64ml/
0.1M 2-mercaptoethanol	0.36ml/

## 〈质粒抽提〉

<b>★Solution I</b>	
1M Tris-HCl(pH8.0)	25ml
250mM EDTA	40ml
Glucose	9 g
	1 L autoclave
<b>★Solution II</b>	
2N NaOH	10ml/100ml
10% SDS	10ml/
<b>★Solution III</b>	
CH <sub>3</sub> COOK	29.4 g
CH <sub>3</sub> COOH	11.5ml/
	10 0ml autoclave
<b>★TE</b>	
1M Tris-HCl(pH8.0)	10ml
250mM EDTA	4ml
	1 L autoclave
<b>★RNase A</b>	
RNase	10mg/ml
1M NaOAc	10 μl/
	(100℃ 10min.)

## 〈噬菌体稀释〉

<b>★SM buffer</b>	
1M Tris-HCl(pH7.5)	5 0ml
NaCl	5.8 g
MgSO <sub>4</sub>	2 g
2% Gelatin	5ml
	1 L autoclave
<b>★TM buffer</b>	
1M Tris-HCl(pH7.5)	50ml/l
1M MgSO <sub>4</sub>	10ml/

## 〈DNA电泳〉

<b>★10×TBE buffer</b>	
Tris	108 g/L
Boric acid	55 g/
EDTA	7.5 g/
<b>★25×TAE buffer</b>	
Tris	121 g/L
CH <sub>3</sub> COONa	10.3 g/
EDTA	9.3 g/
<b>★BPB·XC solution</b>	
BPB	10 mg /10ml
XC	10 mg /
Sucrose	5 g /
250mM EDTA	0.04ml/
<b>★EtBr solution</b>	
EtBr	10mg/ml 暗处存放
<b>★30%丙烯酰胺</b>	
Acrylamide	29 g/100ml
BIS	1 g/

## PAGE组成表 (ml)

凝胶浓度(%)	3.5	5.0	8.0	12.0	20.0
30%	11.6	16.6	26.6	40.0	66.6
10×TBE buffer	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
H <sub>2</sub> O	67.7	62.7	52.7	39.3	12.7
10%APS	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
TEMED	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035



### 〈蛋白质电泳〉

★分离胶 buffer Tris-HCl	181 g/liter(pH8.8)
★浓缩胶 buffer Tris-HCl	60 g/liter(pH6.8)
★分离胶丙烯酰胺 Acrylamide BIS	300 g/liter 8 g/
★浓缩胶丙烯酰胺 Acrylamide BIS	100 g/liter 2.5 g/
★10×running buffer Tris Glycine SDS	30 g/liter 144 g/ 10 g/
★4×Sample buffer 1M Tris-HCl(pH6.8) SDS 2-ME Glycerol BPB	2.1 ml/10ml 860 mg/ 2 ml/ 2.8 ml/ 1 mg/
★染色液 CH <sub>3</sub> OH CH <sub>3</sub> COOH CBB	225 ml/500ml 45 ml/ 1.25 g/
★脱色液 CH <sub>3</sub> OH CH <sub>3</sub> COOH	50 ml/500ml 35 ml/
★固定液 CH <sub>3</sub> COOH	35 ml/500ml

#### 浓缩胶组成表(ml)

浓缩胶丙烯酰胺	3.0
浓缩胶buffer	3.0
10%SDS	0.12
1.5%APS	0.3
H <sub>2</sub> O	0.57
TEMED	0.012

#### 分离胶组成表(ml)

凝胶浓度(%)	凝胶浓度(%)				
	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0
分离胶丙烯酰胺	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0
分离胶 buffer	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
10%SDS	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
1.5%APS	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
H <sub>2</sub> O	16.2	13.7	11.2	8.7	6.2
TEMED	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015

### 〈Western 杂交〉

★Blotting buffer Tris Glycine	6.06 g/liter 28.8 g/
★Skim milk soln. Skim milk NaN <sub>3</sub>	50 g/liter PBS(-) 100 mg/
★PBS(-) NaCl KCl Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	80 g/liter 0.2 g/ 1.15 g/ 0.2 g/
★PBST Tween-20	0.5 ml/liter PBS(-)
★TBS NaCl KCl Tris	8.0 g/liter 0.2 g/ 3 g/ (pH7.4)

### 〈Southern 杂交〉

★20×SSC NaCl Sodium citrate	175.3 g/liter 88.2 g/ (pH7.0) autoclave
★20×SSPE NaCl NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> EDTA	175.3 g/liter 27.6 g/ 7.4 g/ (pH7.4) autoclave
★100×Denhardt'S Ficoll 400 Polyvinylpyrrolidone BSA	20 g/liter 20 g/ 20 g/

### 〈Hanahan法转化〉

★DnD DTT DMSO 1M CH <sub>3</sub> COOK(pH7.5)	1.53 g / 10ml 9 ml / 100 μl /
★TFB KCl MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O Hexammincobalt chloride 0.5M K-MES(pH6.3)	7.4 g /liter 8.9 g / 1.5 g / 0.8 g / 20 ml / autoclave

### 〈酵母转化〉

★PEG/LiAc Solution(用时制备) 50% Polyethylene glycol 10×TE buffer (pH7.5)* 1M Lithium acetate (pH7.5)	8 ml/10ml 1 ml/ 1 ml/	} 分别灭菌后 加以混合。
※10×TE buffer(pH7.5) 1M Tris-HCl(pH7.5) 250mM EDTA	10 ml/100ml 4 ml/ autoclave	



# TOYOBO 产品常见问题 Q&A

## Q1 KOD FX Neo 与 KOD FX 的区别?

**A1** KOD FX Neo 是在「KOD FX」的基础上，结合新开发的「KOD -Plus- Neo」的「延伸增强剂」等技术，抑制 < 停滞现象 >，使长链目的片段·难配序目的片段、粗样品的扩增效率更高。以基因组 DNA 为模板最大可扩增 40kb 的片段，实现了 30 sec/kb 的高速循环（粗样品推荐 1min/kb）。

## Q2 KOD -Plus- Neo 与 KOD -Plus- 的区别?

**A2** KOD -Plus- Neo 在高保真性 PCR 酶「KOD -Plus-」系列技术的基础上，应用了本公司新开发的「延伸增强剂」，保持了「KOD -Plus-」系列高保真性（约为 Taq 的 80 倍）的同时，通过抑制 < 停滞现象 >，明显提高了对微量模板 DNA、长目的片段的扩增效率。延伸时间缩短到 30 sec/kb。是高保真、高效率、高速的 PCR 酶。

## Q3 FSK-101 与 FSQ-101 的区别?

**A3** FSK-101 是用于 RT-PCR 的高效率 cDNA 合成试剂盒，适用于长链 cDNA（10kb 以上）的合成。FSQ-101 是用于 RT-qPCR 的高效率 cDNA 合成试剂盒，通过改良，使得带入到 Realtime PCR 反应体系中的逆转录反应液的影响降到最小，即使在 PCR 反应体系中添加了多至 20% 体积的逆转录反应液，也能表现出良好的反应曲线，因此，最适合用于表达量较少的 mRNA 的高灵敏度检测。由于精简了试剂盒的构成，可非常简便地进行操作，仅需约 15 分钟的逆转录反应，即可得到充分的 cDNA。

## Q4 Blend Taq 与 Blend Taq -Plus- 的区别?

**A4** Blend Taq -Plus- 是在「Blend Taq」的酶溶液中预混了抗 Taq 单克隆抗体，采用热启动法，更提高了 PCR 反应的灵敏度和特异性。

## Q5 THUNDERBIRD qPCR Mix 与 Realtime PCR Master Mix 的区别?

**A5** THUNDERBIRD qPCR Mix 对 Realtime PCR Master Mix 的组分进一步优化，使得反应特异性和 PCR 效率有了提升。THUNDERBIRD Next 系列则在此基础上进一步提高了产品性能以及操作便捷性。

## Q6 Ligation high Ver.2 产生冻结或白色沉淀是否影响连接效率?

**A6** 在 -30°C 以下长期保存，或在冷冻柜的冷气出风口处保存时，可能会产生冻结或白色沉淀，但经实验证明，**将其融解后使用不影响活性**。可用手指捏着离心管使其融解，但注意不要使其升温。

## Q7 Ligation high 融解后有白色沉淀，是否影响使用?

**A7** 作为稳定剂使用的 BSA 可能会形成沉淀，但对反应没有影响，**无需将沉淀融解直接使用**，不会影响连接效率。

## Q8 为什么 FSK-101/FSQ-101 中的 5×RT Buffer 融解后有白色沉淀?

**A8** 低温长期保存后可能在短时间融解后 buffer 中会有白色沉淀，**请务必将其融解后使用**，融解后不会对反应有影响。

## Q9 QPK/QPX 系列产品中是否添附 ROX？ROX 的浓度是多少?

**A9** Realtime PCR Master Mix 中添附了 1× 浓度的 ROX。THUNDERBIRD Next qPCR Mix 中含有 passive reference dye，可代替 ROX 起到校正作用。

## Q10 使用 ReverTra Ace -α- 合成 cDNA 时 RNA 热变性的作用?

**A10** 热变性可消除 RNA 大多数二级结构，从而使引物可以结合。因此，对于容易形成高级结构的 RNA 可以提高逆转录的效率。



**Q11 使用 Target Clone -Plus- 时, 为什么纯化后的 PCR 产物在添加 10×A-attachment Mix 之前需要添加 PCR buffer、MgCl<sub>2</sub> 和 dNTPs?**

**A11** 由于纯化后 PCR 反应液中的 PCR buffer、MgCl<sub>2</sub> 和 dNTP 都被去除了, 因此要重新加入 PCR buffer、MgCl<sub>2</sub> 和 dNTP, 形成 1×PCR 反应体系, 以便 3' 端 dA 的附加。

**Q12 使用 ReverTra Ace qPCR RT Kit 制备的 cDNA 做 Realtime PCR, 制备的 cDNA 需不需要稀释 10 倍以上使用?**

**A12** 可以不稀释 10 倍以上使用, 但将其添加到 RealtimePCR 反应液时请不要超过 20% 的量。因为添加过量会降低 PCR 的反应效率。

**Q13 SuperPrep II Cell Lysis & RT Kit for qPCR 可以处理的细胞数量范围是多少?**

**A13** 使用 96 孔板时, 每个孔可处理的细胞数建议控制在  $1 \times 10^1 \sim 7 \times 10^4$  个之间。该上限因细胞种类而异, 可在  $10^4$  数量级范围通过预实验来验证。

**Q14 MagExtractor -RNA- 能否用于抽提植物组织 Total RNA?**

**A14** NPK-201F 能从培养细胞、动物组织、酵母中抽提出 Total RNA, 不能用于抽提植物组织 Total RNA。

**Q15 使用 KOD FX 时循环条件的设定三步法循环和两步法循环的区别?**

**A15** 当引物 T<sub>m</sub> 值未达 73°C 时, 请用三步法。使用粗样品时, 相比两步法, 用三步法能得到更为稳定的结果。

**Q16 使用 KOD -Plus- / KOD -Plus- Ver.2 时对引物设计的要求?**

**A16** 引物的 GC 含量不可太高, 长度应保持在 22 ~ 34mer 的范围之内 (T<sub>m</sub> 值 >60°C)。

另外, 设计引物时要注意不要使其形成分子内二级结构、引物二聚体等情况。对长链目的片段进行扩增时, 请使用 T<sub>m</sub> 值 65°C 以上的引物。

**Q17 KOD One 的 PCR 反应条件没有预变性步骤, 是否支持热启动?**

**A17** 支持。在以复杂样本为模板扩增时, 增加预变性步骤可能提高 PCR 效果。

**Q18 QRT-101 可否加入 Mn<sup>2+</sup> 后长期保存?**

**A18** 不可以, 加入 Mn<sup>2+</sup> 后在 4°C 保存三周后经检测会相差 1 ~ 2 个 Ct 值。

**Q19 是否可以使用 KOD -Plus- 的 10×PCR buffer 代替 SMK-101 中的 iPCR buffer?**

**A19** 可以使用 10×PCR buffer 加 MgSO<sub>4</sub> 代替 iPCR buffer, 但突变效率会降低。

**Q20 FSQ-201 中的 5×RT Master Mix 与 FSQ-301 中的 5×RT Master Mix II 是否可以混用?**

**A20** 不可以。FSQ-201 中的 5×RT Master Mix 与 FSQ-301 中的 5×RT Master Mix II 组分不同, 请勿混用。另外 FSQ-301 中的 5×RT Master Mix II 要同试剂盒中的 4×DN Master Mix 组合使用进行逆转录反应。

