



DH10B plus 感受态细胞

DH10B plus Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1046

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1046	DH10B plus 感受态细胞	10×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl)5μl (质量控制用)。

储存: -70°C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 DH10B plus 感受态细胞是采用特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测, 转化效率 10^8 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: F- mcrA Δ(mrr-hsdRMS-mcrBC) φ80lacZΔM15ΔlacX74 recA1 endA1 araD139 Δ(ara, leu)7697 galE15 galK λ-rpsL nupG Hte(Tet^R)

产品特点:

DH10B Plus 菌株来源于 MC1061 菌株, mcrA、mcrBC 及 mrr 突变使 DH10B Plus 菌株适合于克隆富含甲基胞嘧啶或甲基腺嘌呤的 DNA (无论真核生物还是原核生物的基因组 DNA 都能被高效的转入 DH10B Plus 中)。recA1 和 endA1 的突变有利于插入 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。φ80dlacZ Δ M15 标记的存在使 DH10B Plus 可用于蓝白斑筛选, rpsL 赋予其链霉素抗性。DH10B Plus 感受态细胞适用于大质粒的构建或者各种文库构建。

操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:** 取感受态细胞置于冰浴中(解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置 30 分钟。
注意: 所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:** 将离心管置于 42°C 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- **复苏:** 向每个离心管中加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37°C 180rpm 摇床振荡培养 45-60 分钟, 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
- **涂板:** 根据实验要求 (质粒, 重组连接产物转化), 吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37°C 培养 12-16 小时。

提示:

- 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下, 半小时内活性无明显变化, 因此, 同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70°C, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 请在无菌条件下, 根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸, 整个过程要轻柔, 尽量低温操作。