

DH10Bac 感受态细胞

DH10Bac Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G2006

保存条件: -80℃

产品规格: 10×100μl 50×100μl

产品介绍

基 因 型

F- mcrA (mrr-hsdRMS-mcrBC) 80lacZM15 lacX74 recA1 endA1 araD139 Δ
(ara,leu)7697 galU galK λ - rpsL nupG /pMON14272 / pMON7124

简 要 说 明

DH10Bac 感受态主要用于生产重组杆状病毒分子（Bac-to-Bac 杆状病毒表达

系统)。DH10Bac 菌株中含有父本杆粒 bMON14272、辅助质粒 pMON7124: 父本杆粒 bMON14272 包含 mini-F 复制子,卡那抗性基因, attTn7 位点和 lacZ α 互补因子; 辅助质粒 pMON7124 含有 tnsABCD 区 (tnsABCD region supplies the transposition proteins required for insertion of the mini-Tn7 from the donor plasmid into its target site on the parent bacmid), 具有四环素抗性, 在细胞扩增过程中丢失, 但可提高供体质粒 pFastBac 转化后的基因转座效率。mcrA、mcrBC 及 mrr 突变使 DH10Bac 菌株适合于克隆富含甲基胞嘧啶或甲基腺嘌呤的 DNA (Therefore , genomic DNA , both prokaryotic and eukaryotic, can be cloned efficiently in DH10Bac)。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。 ϕ 80dlacZ Δ M15 的存在使 DH10Bac 可用于蓝白斑筛选, MLBio High5TM 系列 DH10Bac 感受态细胞经特殊工艺制作, 经 pUC19 质粒检测转化效率 $>108\text{cfu}/\mu\text{g}$ 。

操 作 说 明

1. MLBio DH10Bac 感受态细胞放置冰中融化 (或放手心或室温片刻, 待菌体处于冰水混合状态时迅速插入冰中), 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀, 冰上静置 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 $700\mu\text{l}$ 不含抗生素的 2YT 或 LB 无菌培养液, 混匀后 37°C , 200 rpm 复苏 4 小时。
4. 复苏完成后, 用 SOC 稀释转化液到 (10⁻¹, 10⁻²), 每个稀释用吸取 100ul 铺一个 LB 平板 (共涂 3 个平板), 平板包含 50ug/ml Kan, 7ug/ml Gentamicin, 10ug/ml tetracycline, 40ug/ml X-gal, 40ug/ml IPTG。

5.将平板倒置放于 37℃培养箱 48h。

阳性验证:

1.挑 10 个白色的克隆，重新划线在 LB 平板（50ug/ml Kan，7ug/ml Gentamicin，10ug/ml tetracycline，40ug/ml X-gal，40ug/ml IPTG）。37 度过夜培养。

2.挑选白色的克隆，转接到含有 50ug/ml Kan，7ug/ml Gentamicin，7ug/ml tetracycline 的 LB 培养液中，过夜培养。

3.使用试剂盒抽提重组质粒 DNA（>100kb）。使用 PCR 法分析重组质粒是否正确重组。

注 意 事 项

1.MLBio 感受态细胞最好在冰上融化。

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.涂板时务必涂干，平板表面不留任何水渍。