

DH10B 电击感受态细胞

DH10B Electroporation-Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G2002

保存条件: -80℃

产品规格: 5×50μl 20×50μl

产品介绍

基 因 型

F- mcrA (mrr-hsdRMS-mcrBC) 80lacZM15 lacX74 recA1 endA1 araD139
(ara, leu)7697galE15 galK λ - rpsL nupG

简 要 说 明

MLBio High5TM 系列 DH10B 电击感受态细胞只能用于电击转化而不能用于热

激转化。DH10B 菌株来源于 MC1061 菌株，mcrA、mcrBC 及 mrr 突变使 DH10B 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 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。ϕ 80dlacZΔM15 标记的存在使 DH10B 可用于蓝白斑筛选，rpsL 赋予其链霉素抗性。MLBio High5TM 系列 DH10B 电击感受态细胞适用于大质粒的构建或者各种文库构建。MLBio High5TM 系列 DH10B 电击感受态细胞经特殊工艺制作，经 pUC19 质粒检测，转化效率>10¹⁰cfu/μg。

操作说明

1.0.1cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5 分钟，待其沥干水分，正置 5 分钟，使乙醇充分挥发，待乙醇挥发干净立即插入冰中，压实冰面，电极杯顶离冰面 0.5 cm 以方便盖上杯盖，冰中静置 5 分钟充分降温。

2.取-80℃保存的 DH10B 电击感受态细胞放入冰浴中融化，加入 1 μl 目的 DNA (质粒或连接产物)并用手拨打 EP 管底轻轻混匀立即插入冰中。

A.测定转化效率使用 1 μl 10 pg/μl 的对照质粒 pUC19;

B.对于连接产物，请用乙醇沉淀 DNA 后适量 TE 缓冲液 (10 mM Tris HCl, pH7.5; 1 mM EDTA)重悬，保证 DNA 浓度不超过 100 ng/μl。

3.用 200 μl 枪头将感受态-质粒混合物快速移到电击杯中，避免产生气泡，盖上杯盖。

- 4.启动电转仪，设置参数： $C=25\ \mu F$ ， $PC=200\ \Omega$ ， $V=2.4\ kV$ (此为 BioRad 电转仪推荐参数，使用者也可按所用电转仪推荐的参数操作)，将电击杯快速放入电转槽中，电击完成快速插入冰中。
- 5.立即 向电击杯中加入 1ml 不含抗生素的无菌培养基 S.O.C.，混匀后转移到空 50ml 管中，并用 1ml SOC 轻柔冲洗电转杯并转移到 50ml 管中，另补加 3ml SOC 培养基， $37^{\circ}C$ ，200 rpm 复苏 60 分钟。
- 6.5000rpm 离心一分钟收菌，重悬后取 100-200 μl 涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。将平板倒置放于 $37^{\circ}C$ 培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作，将平板放 $37^{\circ}C$ 培养至少 13h。

注 意 事 项

- 1.加入质粒时体积不应大于感受态体积的 1/10。
- 2.当质粒不纯或存在盐，乙醇，蛋白及缓冲液等污染时，转化效率急剧下降。
- 3.若转化大质粒或想获得较高转化效率，推荐使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒。质粒增大一倍，转化效率下降一个数量级。
- 4.对于连接产物转化，最好转化前用乙醇沉淀 DNA 后适量 TE 缓冲液 (10 mM Tris HCl, pH7.5; 1 mM EDTA)重悬产物，保证 DNA 浓度不超过 $100\ ng/\mu l$ 。过高浓度连接产物或过大体积连接产物会降低转化效率，增加打火的风险。
- 5.混入质粒时应轻柔操作。
- 6.转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。