

DH10B-Plus 电转感受态细胞

(使用说明书 Ver.1.0.1)

产品特点

DH10B-Plus菌株适合于克隆富含甲基胞嘧啶或甲基腺嘌呤的DNA，DH10B-Plus感受态细胞适用于大质粒的构建或各种文库构建，经特殊工艺处理，pUC19 质粒（2686bp，AmpR）检测转化效率 $>10^{10}$ cfu/ μ g DNA。

产品货号：

JSR1802-10 JSR1802-100



扫描二维码了解更多产品信息

产品规格

货号	名称	规格
JSR1802- 10	DH10B-Plus 电转感受态细胞	10×50μl
JSR1802- 100		100×50μl

产品简介

DH10B-Plus 电击感受态细胞仅适用于电击转化，不适用于热激转化。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， ϕ 80lacZ 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各种文库构建，经特殊工艺处理，pUC19 质粒（2686bp, AmpR）检测转化效率 $>10^{10}$ cfu/ μ g DNA。

保存条件（保质期）

-80℃（6 个月）

基因型

F- mcrA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) ϕ 80lacZ Δ M15 Δ lacX74 recA1 endA1 araD139 Δ (ara, leu)7697 galE15 galK λ -rpsL

操作方法

1. 取适量 SOC 放 37 度预热 1-2 小时（每管感受态准备 10ml SOC）。
2. 0.1 cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5 分钟沥干水分，正置 5 分钟，待乙醇挥发干净立即插入冰中，压实冰面，电击杯顶离冰面 0.5 cm 以方便盖上杯盖，冰中静置 5 分钟充分降温。
3. 取-80℃保存的 DH10B-Plus 电击感受态细胞插入冰中 5 分钟，待其融化，加入目的 DNA (质粒或连接产物)并用手拨打 EP 管底轻轻混匀，避免产生气泡，立即插入冰中。
 - A. 测定转化效率使用 1 μ l 0.1ng/ μ l 的对照质粒 pUC19；
 - B. 对于连接产物，部分公司的 T4 连接酶体系或重组体系可与电击感受态混合后电击转化，无需进行 DNA 纯化，但DNA 浓度不能过高，不超过 100 ng/ μ l，体积不超过 5 μ l/50 μ l 感受态。
 - C. 对离子浓度较高的 DNA 溶液或反应体系请用膜纯化或乙醇沉淀法纯化 DNA，ddH₂O 溶解后电击转化。
4. 用 200 μ l 枪头(用刀切除 0.5cm 枪尖)将感受态-DNA 混合物快速移到电击杯中（避免产生气泡），轻轻晃动使液面保持水平状态，盖上杯盖，插入冰中。

5. 启动电转仪，设置参数：C=25 μ F，PC=200 Ω ，V=1.8 kV，将电击杯从冰中拿出，用吸水纸擦拭表面，吸干表面水渍，放入电转槽中，电击完成后拿出电转杯放室温，打开杯盖，15 秒内加入 0.9ml 预热的 SOC（此步骤可在电转仪旁操作，无需在超净台操作），用 1ml 枪吹吸电击杯底部 2-3 次，混匀后转移到 50 ml 离心管（BD Falcon 50 ml 离心管等），向离心管中补加 S.O.C. 培养基至 10 ml。37℃，225 rpm 复苏 60 分钟。

6. 5000 rpm 离心一分钟收菌，重悬后取 100-200 μ l 涂布到含相应抗生素的 S.O.C 平板上（因菌量较大，若全部涂板请选用直径 15cm 培养皿 2-5 个）。将平板倒置放于 37℃培养箱过夜培养 13-17 小时。

注意事项

- ✧ 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 1/10，电击感受态细胞加入电击杯应避免产生气泡，气泡会增加弧光放电风险。
- ✧ DH10B-Plus 菌株有链霉素和四环素抗性，不可用于具有链霉素或四环素抗性质粒的转化。
- ✧ 当 DNA 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
- ✧ 若转化大质粒或想获得高转化效率，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。
- ✧ 对于连接产物，最好用膜纯化或乙醇沉淀法纯化 DNA 后用适量 ddH₂O 或 TE 缓冲液 (10 mM Tris HCl, pH7.5; 1mM EDTA)重悬产物，保证 DNA 浓度不超过 100 ng/ μ 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，增加弧光放电的风险。
- ✧ 混入质粒时应轻柔操作，吸取感受态细胞时避免用力过猛，以免损伤细胞膜，降低转化效率。转化高浓度的质粒或连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。