

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#: 140374-10  
干冰运输, -80℃保存

**TIANDZ**

## 大肠杆菌 DH10B 化学感受态细胞

*E.coli* DH10B Chemical Competent Cell

使用手册 V1.3

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

## 产品及特点

本产品是采用大肠杆菌 DH10B 菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞，可直接用于 DNA 的化学转化。本试剂盒具有下列特点：

1. 使用 pUC19 质粒检测，转化效率可达  $10^8$ ， $-80^{\circ}\text{C}$  保存几个月转化效率不改变。
2. 可用于高效转化 150Kb 大小的质粒，可用于蓝、白斑筛选。
3. 本产品质量稳定，使用方便，质优价廉。
4. DH10B 菌株基因型是  $F^- mcrA \Delta(mrr^- hsdRMS-mcrBC) \Phi 80 lacZ \Delta M15$

$\Delta lacX74 recA1 endA1 araD139 \Delta(ara, leu)7697 galU galK \lambda^- rpsL nupG$ 。其基因型符号及其含义列表如下：

基因型符号	含义
K-12	K-12系的所有菌种默认都携带F因子和 $\lambda$ 、e14、rac三种原噬菌体。其中的e14携带野生型 <i>mcrA</i> 基因，其产物可对甲基化的CG切割。
$F^-$	本菌种缺失F因子
$\lambda^-$	本菌种缺失 $\lambda$ 原噬菌体
<i>araD139</i>	不能代谢阿拉伯糖
$\Delta(ara-leu)7697$	不能自身合成亮氨酸
<i>endA1</i>	核酸内切酶 I 缺失
$[\Phi 80 lacZ \Delta M15]$	$\Phi 80$ 原噬菌体上携带 <i>lacZ</i> $\Delta M15$ ，其编码 $\beta$ -半乳糖苷酶基因 $\omega$ 片段，与携带 $\alpha$ 片段的质粒互补可恢复酶活性，用于蓝白斑筛选
<i>galE15</i>	UDP-半乳糖-4-差向异构酶失活，不能利用半乳糖，对 2 脱氧半乳糖抗性，LPS 合成缺失，转化效率高
<i>galK16</i>	半乳糖激酶失活，不能利用半乳糖，对 2 脱氧半乳糖抗性
$\Delta lacX74$	<i>lac</i> 操纵子和邻近区域缺失，不能代谢乳糖
<i>mcrA</i>	在此菌种中，e14原噬菌体携带的 <i>mcrA</i> 基因缺失，故不能对甲基化的CG切割
$\Delta(mrr^- hsdRMS-mcrBC)$	缺失对甲基化C的限制、缺失EcoK修饰限制系统，缺失对甲基化A的限制
<i>nupG</i>	同 <i>deoR</i> ，核苷酸转运突变，使得细胞组成型合成核苷酸，用于质粒制备
<i>recA1</i>	ATP依赖型重组酶失活， <i>recBCD</i> 、 <i>recE</i> 和 <i>recF</i> 三条重组路径均复丧失，重组率降低1万倍。适合扩增有回文结构的高拷贝质粒
<i>rpsL</i>	30S核糖体S12突变，导致对链霉素抗性

<b>规格及成分</b>	成分	编号	小扁盒包装
	大肠杆菌 DH10B 化学感受态细胞	140374	0.1 mL×10
	使用手册	140374sc	1 份
<b>运输及保存</b>	干冰运输、-80℃保存，有效期半年。		
<b>自备试剂</b>	目的 DNA、SOC 或 LB 培养基等		
<b>使用方法</b>	<p>1. 取感受态细胞置于冰浴中。一次转化感受态细胞的建议用量为 50-100μl，可以根据实际情况分装使用。</p> <p><b>以下实验以 50 μl 感受态细胞为例。</b></p> <p>2. 待感受态细胞融化后，向感受态细胞悬液中加入目的 DNA（根据实际情况加入适量的 DNA，通常 100 μl 感受态细胞能够被 1 ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和），用移液器轻轻吹打混匀，冰浴 30 分钟。</p> <p>3. 42℃热击 90 秒，迅速将离心管转移到冰浴中，冰上静置 2-3 分钟。</p> <p>4. 每个离心管中加入 450 μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基（不含抗生素），混匀后置于 37℃摇床，150 rpm 振荡培养 45 分钟使菌体复苏。</p> <p>5. 根据实验需求，取适量已转化的感受态细胞，加到含有相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上，用无菌的涂布棒将细胞均匀涂开，将平板置于 37℃直至液体被吸收，倒置培养，37℃培养 12-16 小时。</p> <p><b>注意：</b></p> <p>1. 涂布用量可根据具体实验调整。若转化的 DNA 总量较多，可取少量转化产物涂布平板；若转化的 DNA 总量较少，可取 200-300 μl 转化产物涂布平板。若预计的克隆数较少，可通过离心（4,000 rpm，2 分钟）后吸除部分培养液，悬浮菌体后将其涂布于平板中。</p> <p>2. 新制备的固体培养基不易涂干，可将平板正置于 37℃直至液体被吸收后再倒置培养。</p> <p>3. 涂布剩余的菌液可置于 4℃保存，如果次日的转化菌落数过少，可以将剩下的菌液再涂布新培养基进行培养。</p>		

20140606YZH

20190624