



DH10B-T1 感受态细胞

产品信息:

组成	BC128-01
DH10B-T1 Competent cells	20×100μl
pUC19 (0.1ng/μl)	5μl

储存条件: -70℃ 保存，避免反复冻融。

产品介绍:

DH10B-T1 为 DH10B 改进型菌株。该菌株具有 T1 和 T5 噬菌体的抗性。缺失核酸酶 (*endA1*) 基因，提高质粒的产量和质量；*mcrA* 基因型标记和 *mcrBC*，*mrr* 缺失使该菌株适合于克隆含有甲基胞嘧啶和甲基腺嘌呤的质粒 DNA。适用于克隆和扩增质粒，构建基因库或使用质粒衍生的载体产生 cDNA 文库。 ϕ 80lacZ Δ M15 标记提供 β -半乳糖苷酶基因的 α -互补，只需要添加 IPTG 和 X-gal 就可以进行基于 α -互补原理上的蓝白斑筛选实验。

本公司生产的 DH10B-T1 感受态细胞经特殊工艺处理得到，可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测，转化效率可达 10^8 cfu/ μ g。每支感受态可以酌情分装使用，降低了实验的成本。质量稳定，使用方便，质优价廉。

基因型: F⁻*mcrA* Δ (*mrr*-*hsdRMS*-*mcrBC*) ϕ 80lacZ Δ M15 Δ lacX74 *recA1* *endA1* *araD139* Δ (*ara*, *leu*)7697 *galU* *galK* λ ⁻*rpsL* *nupG* *tonA*

操作步骤:

提示:

- ◆ 感受态细胞应保存在 -70℃，不可多次冻融和放置时间过长，以避免降低感受态细胞的转化效率。
 - ◆ 进行转化操作时，应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
 - ◆ 为防止转化实验不成功，可以保留部分连接反应液，以重新转化，将损失降到最低。
1. 取感受态细胞置于冰浴中，如需分装可将刚融化细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中，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。应注意所用 DNA 体积 不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一。）
以下实验以 100μl 感受态细胞为例。
 2. 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA，轻轻旋转离心管以混匀内容物，在冰浴中静置 30 分钟。
 3. 将离心管置于 42℃ 水浴中放置 60 秒钟，然后快速将管转移到冰浴中，使细胞冷却 2 分钟，该过程不要 摇动离心管。
 4. 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℃ 150rpm，摇床 振荡培养 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。
 5. 无菌条件下，取适量菌液加到含相应抗生素的 LB 固体培养基平板上，用无菌的细菌涂布器或玻璃珠将细胞均匀涂开。等平板中的液体完全吸收后，倒置平板，37℃ 培养 12-16 小时。
(涂布用量可根据具体实验来调整。转化质粒在 10ng 左右，90mm 平皿涂布 100μl，55mm 平皿涂布 50μl；连接产物的转化菌液建议离心后倒掉大部分上清，余 200μl，取 100μl 用于涂布。)
 6. 保留剩余的菌液于 4℃ 冰箱中，视平板上菌落生长情况决定去留。