



# NEB 10-beta 电转感受态细胞

## 产品信息:

组成	BC401-01
NEB 10-beta Electrocompetent cells	20×50μl
pUC19 (0.1ng/μl)	5μl

**储存条件:** -70℃保存，避免反复冻融。

## 产品说明:

NEB 10-beta电转感受态细胞只能用于电击转化，不能用于热激转化。该菌株为DH10B衍生株，属大肠杆菌K12菌株，特别适用于BAC，Cosmid等大质粒骨架的文库构建和大质粒克隆或扩增。DNA重组缺陷（*recA1*）和型内切酶缺陷（*endA1*）的特点有利于插入DNA的稳定和高纯度质粒DNA的提取。该菌株具有抗T1噬菌体感染的特性，还可用于蓝/白斑筛选实验，检测β-半乳糖苷酶的活性时，无需添加IPTG，只加X-gal即可。pUC19质粒检测感受态细胞的转化效率大于 $10^{10}$  cfu/μg。

## 基因型:

*araD139* Δ(*ara.leu*)7697 *fhuA lacX74 galK16 galE15 mcrA80d(lacZpM15)recA1 relA1 endA1 nupG rpsL rph spoT1* Δ(*mrrhsdRMS-mcrBC*)

## 操作方法:

1. 电极间距为0.1cm的电转杯（Gene Pulser®/MicroPulser™ electroporation cuvettes）插入碎冰中，压实冰面，冰中静置5分钟，使电转杯充分降温。（电转杯重复使用方法：每次用完后，用大量的自来水冲洗干净去掉菌液和DNA，用蒸馏水洗3遍，将其泡在75%乙醇中30分钟，取出杯子，沥干液体，放在超净台中，使乙醇充分挥发，盖上盖子放干燥地方备用。）
2. 取-70℃保存的感受态细胞插入冰中，待细胞刚化冻后，加入质粒DNA或连接产物（洗脱或溶解质粒的溶液中离子不能太高，或用双蒸水稀释，对照pUC19可以用无菌水稀释到10pg/μl），用手指拨打管底轻轻混匀，立即插入冰中，在超净台中用无菌吸头将细胞/DNA混合物快速转移到电击杯中，避免产生气泡，确保细胞沉到杯底，盖上杯盖，空管保留待用。
3. 启动电转仪，设置电击参数：2.4kV，200Ω，25μF（BTX ECM 630或Bio-Rad GenePulser）。用纸巾擦掉电转杯外部的水分，将电转杯放入电转槽中进行电击。完成后，将电转杯插入冰中，加入950μl无抗生素的SOC或LB培养基，并将液体转移到原来保留的感受态空管中，37℃，150-250rpm振荡培养1小时。
4. 取100-200μl左右的菌液或稀释后的菌液，涂布于含相应抗生素的LB平板上，倒置放于37℃培养箱培养12-18小时。

**注意事项:**

1. 电转杯必须预冷。
2. 感受态细胞应该在冰水浴中化冻，加入 DNA 后应轻柔混匀，加入 DNA 的体积小于细胞体积的 1/10。
3. 一旦 DNA 加入到细胞中，电击操作应该立即进行。
4. DNA 应该溶解在水或 TE 中，连接酶的存在会降低转化效率，必要时需纯化连接产物。
5. 电击时，电转杯中的气泡、含高浓度盐离子的 DNA 或转化产物会导致电弧现象的发生。
6. 电击完成后应该立刻加上 LB 或 SOC 等复苏培养基，每分钟延迟加入会导致 3 倍转化效率的降低。

BM190325