Order: 010-62617225
Technical: 010-62979301
Email: zomanbio@126.com

ZOMANBIO

本产品仅供科研使用.请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

版本号:2023-09-11

DH10B-Plus 电转感受态细胞
DH10B-Plus Electroporation Competent Cell
Cat.NO. ZC1021D

目录编号	产品名称	包装单位
☐ ZC1021D-1	DH10B-Plus 电转感受态细胞	50μl×5
☐ ZC1021D-2	DH10B-Plus 电转感受态细胞	50μl×20

备注：以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl)5μl（质量控制用）。

储存：-70℃ 保存六个月。

产品介绍：

DH10B-Plus 电击感受态细胞只能用于电击转化，不能用于热激转化。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。φ80dlacZ 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者各种文库构建，经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率 $>10^{10}$ cfu/μg DNA。

基因型为：F- mcrA Δ(mrr-hsdRMS-mcrBC) φ80lacZΔM15ΔlacX74 recA1 endA1 araD139 Δ(ara, leu)7697 galE15 galK λ-rpsL nupG Hte(Tet^R)

操作方法：

以下操作均按无菌条件的标准进行:

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 5min, 待其沥干水分, 正置 5min, 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 0.5cm 以方便盖上杯盖, 冰中静置 5min 充分降温。

2. 取 -70℃保存的电击感受态细胞插入冰中 5min, 待其融化, 加入目的 DNA(质粒或连接产物) 并用手拨打离心管底轻轻混匀, 避免产生气泡, 立即插入冰中。

A. 测定转化效率使用 1μl 0.1ng/μl 的对照质粒 pUC19;

B. 对于连接产物, 请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液 (10mM Tris-HCl, pH7.5;1mM EDTA) 重悬, DNA 浓度不超过 100ng/μl, 体积不超过 5μl/50μl 感受态。

3. 用 200μl 枪头将感受态 -DNA 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=25μF, PC=200Ω, V=1.8kV(BioRad 电转仪推荐参数);或 C=25μF, PC=200Ω, V=1.8kV(BTX ECM 630 或 Bio-Rad GenePulser 电转仪推荐参数);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. 加入 700μl 不含抗生素的无菌 SOC 或 LB 培养基, 用 1ml 枪吹吸电击杯底部数次混匀后, 转移到 50ml 离心管(BD Falcon 50ml 锥形离心管等), 向离心管中补加 SOC 或 LB 培养基至 5ml。37℃, 225rpm 复苏 60min。

6. 5000rpm 离心 1min 收菌, 重悬后取 100-200μl 涂布到含相应抗生素的 SOC 或 LB 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 13-17h。

注意事项：

1. 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 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。
3. DNA 加入到细胞中后，立即进行电击操作；电击完成后立刻加上 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。
4. 电击杯里的离子可增加溶液的电导增大在含有细胞和 DNA 的溶液中产生电流和弧光放电的风险。
5. 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。
6. 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。
7. 对于连接产物转化，最好转化前乙醇沉淀 DNA 后用适量 TE 缓冲液 (10mM Tris HCl，pH7.5；1mM EDTA) 重悬产物，保证 DNA 浓度不超过 100ng/μl。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。
8. 混入质粒时应轻柔操作，吸取感受态细胞时不可用孔径过小的枪头 (普通 200μl 枪头应剪去枪头尖 0.6cm) 避免用力过猛，以免剪切力过大损伤细胞膜，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。
9. 电击感受态细胞最好保存在 -70℃以下，高于 -70℃超期储存会导致转化效率下降。

ZOMANBIO