

## NEB 10-beta 感受态细胞

货号: AC10837

规格: 20×100μL

保存: -70℃保存, 避免反复冻融。6个月。不适合在液氮中保存。

### 产品简介:

本公司生产的 NEB 10-beta 感受态细胞是采用大肠杆菌 NEB 10-beta 菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞, 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/μg。

### 基因型:

*araD139Δ(ara-leu)7697fhuAlacX74galK(f80Δ(lacZ)M15)mcrAgalUrecA1endA1nupGrpsL(Str<sup>R</sup>)Δ(mrr-hsdRMS<sub>7</sub>mcrBC)*

### 产品特点:

1. 大肠杆菌 K12 菌株背景, DH10B 菌株的衍生菌株, 核基因中具有链霉素抗性基因(StrR)。
2. 可转化大质粒和 BACs。
3. DNA 重组缺陷(recA1)和内切酶 I 缺陷(endA1)的特点有利于 DNA 克隆的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。
4. 对 T1 噬菌体有抵抗能力 (fhuA2)。
5. 无需添加 IPTG, 只加 X-gal 即可检测β半乳糖苷酶活性, 用于蓝白斑筛选。

### 操作方法: (以下操作均按无菌条件的标准进行)

1. 取感受态细胞置于冰浴中。
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。
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。

### 注意事项:

1. 感受态细胞应保存在-70℃, 不可反复冻融, 否则其转化效率将会降低。
2. 实验过程中应严格无菌操作, 防止其它 DNA 或杂菌的污染, 避免为以后的筛选、鉴定带来影响。
3. 转化时, 转化效率与外源 DNA 的浓度在一定范围内成正比, 但当加入的外源 DNA 量过多或体积过大反而会降低转化效率。转化时 DNA 体积要小于感受态细胞体积的十分之一。
4. 转化率的计算: 转化率=产生菌落的总数/铺板 DNA 总量。
5. 为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接产物, 以重新转化, 将损失降到最低。