



DH10Bac 感受态细胞

DH10Bac Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1020

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1020-1	DH10Bac 感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC1020-2	DH10Bac 感受态细胞	20×100μl

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°C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 DH10Bac 化学感受态细胞是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 DNA 检测, 转化效率高达 10^8 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: F- mcrA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) φ80lacZ Δ M15 Δ lacX74 recA1 endA1 araD139 Δ (ara, leu)7697 galU galK λ- rpsL nupG /pMON14272 / pMON7124

产品特点:

DH10Bac 菌株主要用于生产重组杆状病毒分子(Bac-to-Bac 杆状病毒表达系统)。该菌株中含有父本杆粒 bMON14272、辅助质粒 pMON7124: 父本杆粒 bMON14272 包含 mini-F 复制子, 卡那抗性基因, attTn7 位点和 lacZα 互补因子; 辅助质粒 pMON7124 含有 tnsABCD 区(tnsABCD region supplies the transposition proteins required for insertion of the mini-Tn7 from the donor plasmid into its target site on the parent bacmid), 具有四环素抗性, 在细胞扩增过程中丢失, 但可提高供体质粒 pFastBac(具有庆大霉素抗性)转化后的基因转座效率。mcrA, mcrBC 及 mrr 突变使 DH10Bac 菌株适合于克隆富含甲基胞嘧啶或甲基腺嘌呤的 DNA(Therefore, genomic DNA, both prokaryotic and eukaryotic, can be cloned efficiently in DH10Bac)。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。φ80lacZΔM15 的存在使 DH10Bac 可用于蓝白斑筛选。

操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:**取感受态细胞置于冰浴中(解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置 30 分钟。
注意:所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:**将离心管置于 42°C 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- **复苏:**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°C 180rpm 摇床振荡培养 45-60 分钟 (验证转化效率 60min 即可, 如用于生产重组杆状病毒分子实验建议复苏 4h), 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
注意:复苏完成后, 用 SOC 再稀释 2 个浓度梯度(建议稀释 10、100 倍), 每个浓度吸取 100μl 铺一个 LB 平板(共涂 3 个平板), 平板包含 50μg/ml Kan, 7μg/ml Gentamicin, 7μg/ml tetracycline, 40μg/ml X-gal, 40μg/ml IPTG。如果不稀释克隆子可能会很多, 出现全蓝斑或全白斑的现象。



- **涂板:**根据实验要求(质粒, 重组连接产物转化), 吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37°C 培养 24-48 小时,(抗生素含量较高, 需在 37°C 长时间培养才能挑到合适克隆)。

阳性验证:

- 挑 10 个白色的克隆, 重新划线在 LB 平板(50 μ g/ml Kan, 7 μ g/ml Gentamicin, 7 μ g/ml tetracycline, 40 μ g/ml X-gal, 40 μ g/ml IPTG)。37°C 过夜培养。
- 挑选白色的克隆, 转接到含有 50 μ g/ml Kan, 7 μ g/ml Gentamicin, 7 μ g/ml tetracycline 的 LB 培养液中, 过夜培养。
- 使用试剂盒(ZOMANBIO cat. ZP101)或异丙醇 - 醋酸钠法抽提重组质粒 DNA (> 100kb)。使用 PCR 法分析重组质粒是否正确重组。

提示:

- 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下, 半小时内活性无明显变化, 因此, 同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70°C, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 请在无菌条件下, 根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸, 整个过程要轻柔, 尽量低温操作。
- 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。

ZOMANBIO