

DH10B 化学感受态

■ 产品简介

DH10B 是实验室较为常用的大肠杆菌菌株之一，可用于常规基因克隆，更广泛应用于真核生物的基因组文库、cDNA 文库构建、位点特异性突变等。*mcrA*、*mcrBC* 及 *mrr* 突变使 DH10B 菌株适合于克隆富含甲基胞嘧啶或甲基腺嘌呤的真核生物 DNA；*recA1* 和 *endA1* 的突变使该菌株的重组率较低，有利于插入 DNA 的稳定，故常用于克隆质粒的保存和高纯度质粒 DNA 的提取。 ϕ 80*lacZ*Δ*M15* 的存在使 DH10B 可用于蓝白斑筛选；*rpsL* 赋予其链霉素抗性。使用 pUC19 质粒进行热激活转化，转化效率可达 10^8 cfu/μg DNA。

■ 产品组成

组分	KW-96101
DH10B 化学感受态	10×100 μL

基因型: F⁻ *mcrA* Δ(*mrr-hsdRMS-mcrBC*) ϕ 80*lacZ*Δ*M15* Δ*lacX74* *recA1* *endA1* *araD139* Δ(*ara-leu*)7697 *galUgalK* λ- *rpsL*(Str^R) *nupG*

■ 存储条件

-80℃保存；请勿将本品置于-20℃或者液氮中保存！

■ 使用方法

- 解冻感受态细胞：**从-80℃取感受态细胞，放置在冰浴或冰水浴中融化，约 5-10 min，放置时间过长会影响转化效率。
- DNA 样品的转化：**每 100 μL 感受态加入待转化 DNA 样品(例如质粒、连接产物或重组产物等)约 10 μL，然后轻轻弹击管底约 2-3 次，立即冰上静置孵育 30 min。
 - 加入待转化 DNA 样品体积通常不宜超过感受态细胞体积的 10%。
 - 加入待转化 DNA 样品后应轻柔操作，避免使用移液枪吹打混匀。
 - 如果用于质粒的转化扩增，冰浴静置约 10 min 后可以直接涂板并培养过夜；如果用于连接产物或重组产物的转化，建议冰浴静置 30 分钟并严格执行后续的热激处理和复苏培养等步骤，以提高转化效率。
- 热激处理：**将冰浴后的离心管快速置于 42℃水浴中，静置热激 90 s。随后立即转移至冰水浴中静置 2-3 min 以快速冷却。
 - 热激及转移至冰浴过程中请勿晃动离心管。
- 复苏培养：**加入 900 μL 37℃预热的 LB 或 SOC 培养基，颠倒数次混匀，37℃摇床约 220 rpm 复苏培养 45 min。
- 收菌涂板：**如果用于质粒的转化扩增，建议直接取 50-100 μL 进行涂板即可；如果用于连接产

物或重组产物的转化，建议先 5000 g，1 min 室温离心沉淀细菌，吸除约 900-950 μL 上清，然后用剩余的约 50-100 μL 菌液重悬，涂布到含相应抗生素的 LB 平板上。

6. **过夜培养：**将平板倒置放于 37°C 培养箱培养过夜。

◆ 培养前需要将平板在超净台中稍微晾至无明显水渍，有利于形成单克隆。

■ 注意事项

1. 感受态细胞冰水浴中解冻后应立即使用；
2. 加入的待转化 DNA 的总体积不应超过感受态细胞体积的 1/10；
3. 加入待转化 DNA 后，不要用移液器吹吸感受态细胞，仅用手指轻弹即可；
4. 为确保更高转化效率，整个操作过程中除热激外均要保持低温，并且要尽量轻柔。