

10-beta Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL3080)

10-beta Competent Cell	100µl /支
pUC19 (control vector, 10pg/µl)	10µl
保存条件 (保质期):	-80°C (6 个月)

● 基因型

$\Delta(ara-leu)$ 7697 *araD139* *fhuA* $\Delta lacX74$ *galK16* *galE15* *e14-* $\phi 80dlacZ \Delta M15$ *recA1* *relA1* *endA1*
nupG *rpsL* (Str^R) *rph* *spoT1* $\Delta(mrr-hsdRMS-mcrBC)$

● 产品说明

10-beta 菌株来源于 MC1061 菌株, 基因型接近 DH10B 菌株, 具有与 DH10B 类似的功能, 更适合克隆大质粒和 BAC 文库。 *mcrA*、*mcrBC* 及 *mrr* 突变使 10-beta 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 10-beta)。 *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。 $\phi 80lacZ \Delta M15$ marker 的存在使 10-beta 可用于蓝白斑筛选; *fhuA* 突变赋予其对 T1 噬菌体的抗性; *rpsL* 赋予其链霉素抗性。 10-beta 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 > 10⁸ cfu/µg DNA。

● 操作方法

1. 10-beta 感受态细胞从 -80°C 拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打), 冰中静置 25 分钟。
2. 42°C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰上并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 µl 不含 抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB), 混匀后 37°C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体, 留取 100 µl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作, 将平板放 37°C 培养至少 15h。

● 注意事项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化。插入冰中 8 分钟内加入目标 DNA, 不可在冰中放置时间过长, 会降低转化效率。混入目的 DNA 时应轻柔操作, 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物应减少最终用于涂板的菌量。
2. 请勿使用 SOC 培养基, 可用 2YT/LB 复苏, 也可用专用的复苏液 RE Outgrowth Medium (唯地 CAT#: RE1011L)。
3. 若要获得大量, 高纯度质粒, 建议在 TB 培养基 (唯地 CAT#: CM1018L) 中摇菌培养 (以标准质粒 PUC19 为例: 在 TB 营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为 LB 的 3-4 倍, SOC 的 2 倍)