



NEB 10-betaCompetent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC125)

NEB 10-beta Competent Cell	100μl/支
pUC19 (control vector, 0.1ng/μl):	10μl
保存条件(保质期):	-80°C (6 个月)

产品介绍

NEB 货号 C3020 对应产品。该菌株为 DH10B 衍生株, 属大肠杆菌 K12 菌株, 特别适用于 BAC, Cosmid 等大质粒骨架的文库构建和大质粒克隆或扩增。DNA 重组缺陷 (*recA1*) 和 I 型内切酶缺陷 (*endA1*) 的特点有利于插入 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。该菌株具有抗 T1 噬菌体感染的特点, 还可用于蓝/白斑筛选实验, 检测β-半乳糖苷酶的活性时, 无需添加 IPTG, 只加 X-gal 即可。pUC19 质粒检测感受态细胞的转化效率大于 10^8 cfu/μg。

基因型: F- *mcrA* Δ(*mcr-hsdRMS-mcrBC*) φ80/*lacZ*ΔM15Δ/*lacX74 recA1 endA1 araD139* Δ (*ara, leu*)7697 *galE15 galK λ-rpsL nupG*

操作方法

1. 取感受态细胞置于冰浴中 (解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA (质粒或连接产物), 轻轻混匀, 在冰浴中放置 25 分钟。

注意: 所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞体积的 1/10。

2. 将离心管置于 42°C 水浴中放置 60 秒, 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。

3. 向每个离心管中加入 700μl 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, 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。

4. 根据实验要求, 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 12-16 小时。

注意事项

1. 感受态细胞需要在冰中缓慢融化, 插入冰中 10 分钟内加入目标 DNA, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。
2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作, 避免用移液枪吹吸。
3. 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 感受态细胞应保存在 -80°C, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
5. 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

