

## DH10Bac 化学转化感受态使用说明

### ◇ 产品简介

本品为大肠杆菌 DH10Bac [基因型: F<sup>-</sup> *mcrA* Δ(*mrr-hsdRMS-mcrBC*) φ80*lacZ*ΔM15 Δ*lacX74 recA1 endA1 araD139* Δ(*ara, leu*)7697 *galU galK λ rpsL nupG* /pMON14272 / pMON7124]制作的高效感受态。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 *lacZ*α 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。φ80*lacZ* Δ M15 的存在使 DH10Bac 可用于蓝白斑筛选; pUC19 质粒检测转化效率 >10<sup>8</sup> cfu/μg DNA。

### ◇ 产品规格

品名	货号	规格
DH10Bac 化学转化感受态	EC006H-S	10×100 μL
	EC006H-M	50×100 μL

保存条件: -80℃ (12 个月)

### ◇ 转化方法

供体质粒 (pFastBac 等) 转化重组方法:

1. 从-80℃冰箱中取出感受态细胞, 放入冰中 5 min, 加入供体质粒(pFastBac 等) 1 ng, 轻弹使混合均匀, 并在冰中孵育 30min;
2. 放 42℃水浴锅中热激 45s, 立即插入冰中静置 2-3 min;
3. 添加 900 μL LB 液体培养基, 37℃摇床 220 rpm 培养 4 h;
4. 吸取 100μL 菌液均匀涂布抗性平板, 平板包含 50ug/ml Kan, 7ug/ml Gentamicin, 7ug/ml tetracycline, 40ug/ml X-gal, 40ug/ml IPTG, 37℃培养箱放置 48 h。

pUC19 检测转化效率方法:

1. 从-80℃冰箱中取出感受态细胞, 放入冰中 5 min, 加入质粒, 轻弹使混合均匀, 并在冰中孵育 30min;
2. 放 42℃水浴锅中热激 45s, 立即插入冰中静置 2-3 min;
3. 添加 900 μL LB 液体培养基, 37℃摇床 220 rpm 培养 1 h;
4. 吸取 100μL 菌液均匀涂布抗性平板, 37℃培养过夜。

◇ 注意事项

1. 感受态细胞解冻后应立即使用，不可在冰中放置过长时间。
2. 不能用移液器抽吸感受态细胞，用手指轻弹混匀即可。