天净沙系列

CAT#:26-105

干冰运输、-80℃保存

天净沙

大肠杆菌 F-DH5α快速转化感受态细胞

E. coli F-DH5α Rapid Transformation Competent Cells

使用手册 V0.8

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是大肠杆菌 F-DH5α快速转化感受态细胞，是实验室最常用的感受态细胞，经特殊工艺制作，无需 42℃热激，37℃孵育步骤，只需冰浴，10 min 内完成转化、涂板操作。

该菌株的基因型为：F- φ80 *lac* ZΔM15 Δ(*lac*ZYA-*arg* F) U169 *end*A1 *rec*A1 *hsd*R17(r_k^-,m_k^+) *sup*E44λ- *thi* -1 *gyr*A96 *rel*A1 *pho*A

本产品具有以下特点：

1. 缺失核酸内切酶（*end*A），提高了质粒 DNA 的产量和质量。
2. 重组酶缺陷型（*rec*A）减少插入片段的同源重组概率，保证了插入 DNA 的稳定性。
3. 可用于蓝、白斑筛选。
4. pUC19 质粒（2686 bp ，Amp^R）检测转化效率>2E8 cfu/μg DNA
5. 本产品足够 10 次 100 μL 的转化实验。
6. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品采用 LOGO 热封袋包装

成分	编号	规格	包装
大肠杆菌 F-DH5α化学感受态细胞	26-105a	100 μL×20	1.5 mL 本色管
pUC19（10 pg/μL）	26-105b	10 μL	1.5 mL 本色管
使用手册	26-105sc	1 份	无

运输及保存

干冰运输，-80℃保存，有效期为 6 个月

自备物品

质粒，EP 管，0.9% NaCl。

使用方法

一、快速转化操作方法（10 min）

1. 提前 15 分钟将用到的筛选培养基平板拿到 37℃预热。
2. F-DH5α感受态细胞从-80℃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，冰中静置≥5 分钟。
3. 用 200 μL 枪将感受态细胞-DNA 混合物转移到已经 37℃预热的 LB 培养基上，涂均匀，表面无水渍。
4. 将平板倒置放于 37℃培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作，将平板放 37℃培养至少 15 h。

二、快速热激转化操作方法（25 min，可提高转化效率）

5. F-DH5α感受态细胞从-80℃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，冰中静置 5 分钟。
6. 42℃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）。加

	入 700 μL 不含抗生素的 LB，37℃，200 rpm 复苏 10 分钟，涂板（均匀，表面无水渍）。 7. 将平板倒置放于 37℃培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作，将平板放 37℃培养至少 15 h。 **三、注意事项** 8. F-DH5α快速转化感受态细胞也可进行热激操作，对于>7 kb 质粒的构建，为了提高转化效率可按以下步骤操作：F-DH5α感受态细胞从-80℃拿出，插入冰中，5 分钟后，加入目的 DNA 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀，冰中静置 20 分钟。42℃水浴热激 45 秒，迅速放回冰中静置 2 分钟。加入 700 μL LB，37℃，200 rpm 复苏 30 分钟，涂板。 9. 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，长时间存放会降低转化效率，混入目的 DNA 时应轻柔操作。 10. F-DH5α快速转化感受态细胞涂氨苄/羧苄青霉素抗性平板时效率较高，若涂卡那霉素或其他抗生素平板，转化效率下降（因无孵育步骤，卡那霉素等对菌体毒性较大）。若要提高卡那霉素或其他抗性质粒的转化效率，可增加孵育步骤。
关联产品	大肠杆菌 DH5α菌种