天净沙系列

CAT#:26-001

干冰运输、-80℃保存

天净沙

# 大肠杆菌 DH5α化学感受态细胞

# *E.coli* DH5α Chemically 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 DH5α化学感受态细胞。DH5α菌株是实验室最常用的感受态细胞。缺失核酸内切酶(endA)，提高了质粒 DNA 的产量和质量；重组酶缺陷型(recA)减少插入片段的同源重组概率，保证了插入 DNA 的稳定性；*lacZ*ΔM15 的存在使 DH5α可用于蓝、白斑筛选。本产品提供的 pUC19 对照质粒(2686 bp, Amp)检测转化效率＞$1\times10^{10}$ cfu/μg DNA。

菌株基因型是：F-φ80 *lacZ*ΔM15Δ(*lacZ*YA-*arg*F) U169 *end*A1 *rec*A1 *hsd*R17 (rk-, mk+)*sup* E44λ-*thi*-1 *gyr*A96 *rel*A1 *pho*A

本产品具有以下特点：

1. 使用 pUC19 质粒（2686 bp，Amp）检测转化率＞1E10 cfu/μg DNA
2. 本产品足够 20 次 100 mL 的转化实验。
3. 本产品只可用于科研。

## 规格及成分

本产品采用 12 孔盒包装

| 成分 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| 大肠杆菌 DH5α<br>化学感受态细胞 | 26-001 | 100 μL×20 | 1.5mL 压盖管 |
| pUC19（10 pg/μL） | 26-001a | 10 μL | 1.5mL 压盖管 |
| 使用手册 | 26-001sc | 1 份 | 无 |

## 运输及保存

干冰运输、-80℃保存，有效期半年。

## 自备物品

LB 培养基

## 使用方法

**一、常规转化：**

1. 感受态细胞从-80℃拿出，迅速插入冰中，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 min。

   注意：所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10，100 μL 感受态细胞能够被 1 ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
2. 42℃水浴热激 45 s，迅速放回冰中并静置 2 min，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)，37℃，200 ×g 复苏 60 min。
4. 5000 ×g 离心 1 min 收菌，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。

**二、快速转化流程 A（此流程转化效率约为正常转化流程的 20%-30%，pUC19 的转化效率≥ 2×E9 cfu/μg，快转仅使用氨苄 Amp 质粒）**

5. 提前 15 min 将平板放入 37℃培养箱预热。

| | |
|---|---|
| | 6. 将感受态细胞从-80℃拿出，迅速插入冰中，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），冰上静置≥ 5 min。<br>7. 将 EP 管中感受态—DNA 混合物转移到提前预热的平板中，用玻璃珠或涂布棒涂布均匀。<br>8. 将平板倒置于 37℃培养箱过夜培养。<br>**三、快速转化流程 B（该快转方法 B 的转化效率约为正常转化流程的 30%-40%，pUC19 的转化效率≥ 3×E9 cfu/μg，快转仅使用氨苄 Amp 质粒）**<br>9. 将感受态细胞从-80℃拿出，迅速插入冰中，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)，冰上静置 5 min。<br>10. 42℃水浴热激 45 s – 60 s，迅速放回冰中并静置 2 min。<br>11. 将 EP 管中感受态—DNA 混合物转移到平板中，用玻璃珠或涂布棒涂布均匀。<br>12. 将平板倒置于 37℃培养箱过夜培养。<br>**四、注意事项：**<br>13. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化，插入冰中 8 min 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。<br>14. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作。<br>15. 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。 |
| **关联产品** | 改良 LB 培养基 |

20261021sxl