



## DH5α Chemically Competent Cell

### ● 产品规格

货号: KTSM101L

规格: 100 μL/支

pUC19(control vector, 100 pg/μL): 5μL

保存条件: -80°C

有效期: 6 个月

运输: 干冰运输

### ● 基因型

F<sup>-</sup>, φ80dlacZ ΔM15, Δ(lacZYA-argF)U169, deoR, recA1, endA1, hsdR17(rk<sup>-</sup>, mk<sup>+</sup>), phoA, supE44, λ<sup>-</sup>, thi-1, gyrA96, relA1

### ● 产品说明

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; lacZΔM15 的存在使 DH5α 可用于蓝、白斑筛选。DH5α 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率 >10<sup>8</sup> cfu/μg DNA。

### ● 操作方法

#### 一、热激转化法

1. 从-80°C冰箱取出感受态细菌冰浴融化后, 吸取 100 uL, 加入目的质粒 (连接产物), 轻轻混匀, 冰浴 30 分钟。
2. 42°C 水浴热激 60 秒, 迅速放回冰中并静置 2 分钟, 该过程不要摇动。
3. 向管中加入 700 μL SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 37°C、200 rpm/min、45 分钟培养复苏。
4. 根据实验要求 (质粒、重组连接产物转化), 吸取不同体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 LB 琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。倒置平板, 37°C 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 15 小时。



## 二、10 分钟快速转化法

注: 在使用卡那霉素, 四环素等作为筛选抗性时, 需要在 SOC 培养基中复苏以提高转化效率, 当使用氨苄青霉素作为筛选抗性时, 该步骤可以省略。感受态细胞-DNA 混合物在冰上孵育 5-10 分钟后加入 4 倍体积的 37°C 温浴的 SOC 培养基, 在 37°C 180 rpm 孵育 1 小时, 然后转移到 37°C 预热的 LB 培养基上。

1. 提前 15 分钟将用到的筛选培养基平板拿到 37°C 预热。
2. DH5 $\alpha$  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, 冰中静置 5 分钟。
3. 用 200  $\mu$ L 枪将感受态细胞-DNA 混合物转移到已经 37°C 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°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 15 小时。

### ● 注意事项

1. 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。
2. 避免反复化冻。
3. 避免移液枪吹吸。
4. 整个操作过程要轻柔。
5. 重组产物不建议用 10 分钟快速转化法。

**声明: 本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为 食品、化妆品或家庭用品等。**