

DH5 α 化学感受态

产品简介

DH5 α 感受态细胞是一种可以用于常规质粒高效转化的质粒克隆化学感受态细胞，是实验室较为常用的大肠杆菌菌株之一，广泛用于基因克隆，蓝白筛选，质粒稳定扩增等分子生物学实验。该菌株缺失核酸内切酶(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 Δ M15 是表达 β -半乳糖苷酶 α 片段的一段基因，当 M15 缺失 (Δ M15) 时，lacZ 基因虽然能表达 ω 片段，但不能表达 α 片段， β -半乳糖苷酶没有活性。当带有 lacZ (α 片段) 基因的 lac 操纵子通过载体 DNA (如 pUC19) 转化到 lacZ Δ M15 基因型的感受态 (如 DH5 α) 时，在有 IPTG (异丙基- β -D-1-硫代半乳糖苷) 存在的情况下，IPTG 作为乳糖的类似物与 lacI 阻遏蛋白结合而使 lac 操纵子不被抑制，从而利用 α 互补性产生完整的 β -半乳糖苷酶， β -半乳糖苷酶可分解底物 X-gal (半乳糖类似物)，使其呈现蓝色。因此，DH5 α 感受态可用于蓝、白斑筛选。使用 pUC19 质粒进行热激活转化，转化效率可以高达 1×10^8 cfu/ μ g DNA 以上。

产品组成

组分	AO4101-01	AO4101-02	AO4101-C
DH5 α 化学感受态	20 $\times$ 100 μ L	100 $\times$ 100 μ L	定制

基因型：F' ϕ 80lacZ Δ M15 Δ (lacZYA-argF) U169 recA1 endA1 hsdR17(κ^- m_k^+) phoA supE44 thi-1 gyrA96 relA1 λ

存储条件

-80 $^{\circ}$ C 保存；请勿将本品置于 -20 $^{\circ}$ C 或者液氮中保存！

使用方法

1. 解冻感受态细胞：从 80 $^{\circ}$ C 取出感受态细胞，冰上融化约 5-10 min，然后立即进行 DNA 样品的转化。
2. DNA 样品的转化：每 100 μ L 感受态可加入 0.5-10 μ L 待转化 DNA 样品（例如质粒、连接产物或重组产物等），然后轻轻弹击管底约 5-6 次，立即冰上静置孵育 30 min。

待转化 DNA 样品的加入体积不宜超过感受态细胞体积的 1/10。

加入待转化 DNA 样品后应轻柔弹击混匀，避免使用移液枪剧烈吹打混匀。

用于质粒的转化时可将冰浴时间缩短至 5-10 min；用于连接产物或重组产物转化时，建议冰浴时间为 15-30 min 以提高转化效率。

3. 热激处理：冰浴后，将装有感受态和 DNA 样品的离心管快速置于 42 $^{\circ}$ C 水浴中，静置热激 90 s，随后立即转移至冰上静置 2-3 min 以快速冷却。

DH5 α 化学感受态

热激及转移至冰浴过程中禁止晃动离心管。

4. 复苏培养：加入 900 μL 室温或 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的 LB 培养基（或 SOC 培养基等），上下颠倒数次混匀，然后将离心管倾斜放置在恒温摇床中，37 $^{\circ}\text{C}$ 220 rpm 复苏培养 45 min。

37 $^{\circ}\text{C}$ 为常规复苏温度，若转入质粒对温度敏感或其它特殊情况需根据实验要求设置合适的温度。

5. 收菌涂板：用于质粒转化时，复苏后可直接取 50-100 μL 菌液涂板；用于连接产物或重组产物转化时，建议先 5000 g 1 min 室温离心，吸弃约 900 μL 上清，然后用剩余的约 100 μL 重悬菌液，涂布到含相应抗生素的 LB 平板上。

6. 过夜培养：将平板倒置放于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱培养过夜。

培养前需要将平板在超净台中稍微晾至无明显水渍，有利于形成单克隆。

37 $^{\circ}\text{C}$ 为常规培养温度，若转入质粒对温度敏感或其它特殊情况需根据实验要求设置合适的温度。

注意事项

1. 感受态细胞冰上解冻后应立即使用，融化时间过长可能会影响转化效率；
2. 为确保更高转化效率，整个操作过程中除热激外均要保持低温，并且要尽量轻柔。