

DH5α超级感受态细胞

产品编号: MB15033-1 规格: 100μL×50 支/包

产品内容:

产品组成	MB15033-1
DH5α超级感受态细胞	100μL×50 支/包
说明书	1 份

产品简介:

DH5α超级感受态细胞,是一种可以用于常规质粒高效转化的质粒克隆用 *E.coli* DH5α即用型化学感受态细胞。使用 pUC19 质粒进行热激活转化,在严格按照使用说明进行操作时,转化效率可以达到 $1.0\pm 0.5\times 10^9$ cfu/μg DNA。

DH5α是实验室最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。

DH5α 菌株的基因型为 $F^- \phi 80 \text{ lacZ}\Delta M15 \Delta(\text{lacZYA-argF})U169 \text{ recA1 endA1 hsdR17}(\text{rk}, \text{mk}^+) \text{ phoA, supE44 thi-1 gyrA96 relA1 } \lambda^-$, 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*ΔM15 的表达使 DH5α感受态可用于蓝、白斑筛选。

操作方法:

1. 解冻感受态细胞。取感受态细胞放置冰浴或冰水浴中融化,通常需要 5 分钟以上的时间。解冻后须尽量在 10 分钟内使用,放置时间过长会影响转化效率。
2. DNA 样品的转化。取一管感受态细胞,加入 DNA 样品,例如质粒、连接产物或重组产物等,轻轻弹击管底约 2-3 次或轻轻晃动约 2-3 次以混匀,立即冰浴静置 30 分钟。
3. 注:所用 DNA 体积通常不宜超过感受态细胞体积的 10%,混合时不得使用移液器进行吹打。如果用于质粒的转化扩增,冰浴静置约 10 分钟,后续可以直接涂板并培养过夜;如果用于连接产物或重组产物的转化,建议冰浴静置 30 分钟并严格执行后续的热激处理和复苏培养等步骤,以提高转化效率。
4. 热激处理。将冰浴放置的离心管快速置于 42℃ 水浴中,静置热激 45 秒。随后立即转移至冰水浴中静置 2 分钟以快速冷却至接近零度。热激及转移至冰浴过程中切勿晃动离心管。
5. 复苏培养。加入 900μl 不含抗生素的 LB 培养基,颠倒数次混匀,37℃ 摇床约 150rpm 复苏培养 1 小时。如果用于质粒的转化扩增,复苏培养 10-20 分钟也完全足够;如果用于连接产物或重组产物的转化,建议严格进行复苏培养操作。
6. 收菌涂板。约 5000×g 室温离心 1 分钟,沉淀细菌,吸除约 900-950μl 上清,余下约 50-100μl 上清。用移液器轻轻吹打并重悬菌体,随后涂布到含相应抗生素的 LB 平板上。注:如果用于质粒的转化扩增,可以仅取少量进行涂板;如果用于连接产物或重组产物的转化,建议取所有重悬的菌液涂板。
7. 将平板倒置放于 37℃ 培养箱培养过夜。

保存条件: -80℃ 保存,一年内有效。避免反复冻融,通常制备 6 个月后转化效率随保存时间延长而逐渐降低。

运输条件: 干冰运输。

注意事项:

- 感受态细胞禁止反复冻融,并应尽可能避免冻融,反复冻融会导致转化效率大幅下降。
- 感受态细胞融化后,须尽快加入待转化样品,不宜在无转化产物的情况下放置时间超过 10 分钟或以上时间,以免降低感受态细胞的转化效率。
- 待转化样品的体积通常不宜超过感受态细胞体积的 10%,样品体积过大会导致转化效率下降。
- 感受态细胞对于温度变化非常敏感,需要避免出现不应有的使用说明之外的温度变化。



- 感受态细胞对于机械力非常敏感。加入待转化样品时应轻柔操作，不能使用移液枪吹打混匀。
- 通常仅建议取部分样品用于转化，这样万一遇到转化失败的情况，还留有样品可以再次进行转化。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

S250401

