

DH5 α 化学感受态

(仅供参考，以收到货的说明书为准!)

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	KW-96102
DH5 α 化学感受态	20 \times 100 μ L

基因型: F- ϕ 80*lacZ* Δ M15 Δ (*lacZYA-argF*) U169 *recA1 endA1 hsdR17*($\text{r}^- \text{mk}^+$) *phoA supE44 thi-1 gyrA96 relA1 \lambda-*

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

- 解冻感受态细胞：**从-80 $^{\circ}$ C取感受态细胞，放置在冰浴或冰水浴中融化，约 5-10 min，放置时间过长会影响转化效率。
- DNA 样品的转化：每 100 μ L 感受态加入待转化 DNA 样品(例如质粒、连接产物或重组产物等)约 10 μ L，然后轻轻弹击管底约 2-3 次，立即冰上静置孵育 30 min。
 - 加入待转化 DNA 样品体积通常不宜超过感受态细胞体积的 10%。
 - 加入待转化 DNA 样品后应轻柔操作，避免使用移液枪吹打混匀。
 - 如果用于质粒的转化扩增，冰浴静置约 10 min 后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。

3. **热激处理:** 将冰浴后的离心管快速置于 42°C 水浴中, 静置热激 90 s。随后立即转移至冰水浴中静置 2-3 min 以快速冷却。

◆ 热激及转移至冰浴过程中请勿晃动离心管。

4. **复苏培养:** 加入 900 μL 37 °C 预热的 LB 或 SOC 培养基, 颠倒数次混匀, 37°C 摇床约 220 rpm 复苏培养 45 min。

5. **收菌涂板:** 如果用于质粒的转化扩增, 建议直接取 50-100 μL 进行涂板即可; 如果用于连接产物或重组产物的转化, 建议先 5000 g, 1 min 室温离心沉淀细菌, 吸除约 900-950 μL 上清, 然后用剩余的约 50-100 μL 菌液重悬, 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°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。

注意事项

1. 感受态细胞冰水浴中解冻后应立即使用;
2. 加入的待转化 DNA 的总体积不应超过感受态细胞体积的 1/10;
3. 加入待转化 DNA 后, 不要用移液器吹吸感受态细胞, 仅用手指轻弹即可;
4. 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。