

天
净
沙
系
列

CAT#:81024-20
干冰运输、-80℃保存

TIANDZ

大肠杆菌 DH5α化学感受态细胞

E.coli DH5α Chemical Competent Cell

使用手册 V1.1

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506
网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>本产品是采用大肠杆菌 DH5α菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞，可用于 DNA 的热击转化。DH5α是一种常用于质粒克隆的菌株，其ϕ80lacZΔM15 基因产物可与载体编码的β-半乳糖苷酶氨基端实现α 互补，可用于蓝白斑筛选。recA1 和 endA1 的突变有利于克隆 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。使用 pUC19 质粒检测，转化效率可达 10⁸，适用于高效的质粒 DNA 克隆并能保证高拷贝质粒的稳定复制。</p> <p>本菌种来源于 Hoffman-Berling 1100 菌种，具有下列特点：</p> <table border="1" data-bbox="528 517 1283 1211"> <thead> <tr> <th>基因型</th> <th>表现型</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>deo R</i></td> <td>组成型合成脱氧核糖</td> </tr> <tr> <td><i>end A1</i></td> <td>核酸内切酶 I 缺失</td> </tr> <tr> <td><i>gyr A96</i></td> <td>具有萘啶酮酸抗性</td> </tr> <tr> <td><i>hsd R17</i></td> <td>限制性酶 EcoK 缺失</td> </tr> <tr> <td>$\Delta(lac)U169$</td> <td>lac 基因缺失</td> </tr> <tr> <td><i>rec A1</i></td> <td>DNA 重组活性降低</td> </tr> <tr> <td><i>relA1</i></td> <td>允许在无蛋白质合成时有 RNA 合成</td> </tr> <tr> <td><i>sup E44</i></td> <td>抑制琥珀突变突变，为某些噬菌体必需</td> </tr> <tr> <td><i>thi -1</i></td> <td>不能自身合成硫氨</td> </tr> <tr> <td>ϕ80 (<i>lac Z</i>ΔM15)</td> <td>提供α-互补所需的ω片断</td> </tr> </tbody> </table>			基因型	表现型	<i>deo R</i>	组成型合成脱氧核糖	<i>end A1</i>	核酸内切酶 I 缺失	<i>gyr A96</i>	具有萘啶酮酸抗性	<i>hsd R17</i>	限制性酶 EcoK 缺失	$\Delta(lac)U169$	lac 基因缺失	<i>rec A1</i>	DNA 重组活性降低	<i>relA1</i>	允许在无蛋白质合成时有 RNA 合成	<i>sup E44</i>	抑制琥珀突变突变，为某些噬菌体必需	<i>thi -1</i>	不能自身合成硫氨	ϕ 80 (<i>lac Z</i> Δ M15)	提供 α -互补所需的 ω 片断
基因型	表现型																								
<i>deo R</i>	组成型合成脱氧核糖																								
<i>end A1</i>	核酸内切酶 I 缺失																								
<i>gyr A96</i>	具有萘啶酮酸抗性																								
<i>hsd R17</i>	限制性酶 EcoK 缺失																								
$\Delta(lac)U169$	lac 基因缺失																								
<i>rec A1</i>	DNA 重组活性降低																								
<i>relA1</i>	允许在无蛋白质合成时有 RNA 合成																								
<i>sup E44</i>	抑制琥珀突变突变，为某些噬菌体必需																								
<i>thi -1</i>	不能自身合成硫氨																								
ϕ 80 (<i>lac Z</i> Δ M15)	提供 α -互补所需的 ω 片断																								
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="528 1211 1019 1406"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>十孔盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>大肠杆菌DH5α化学感受态细胞</td> <td>0.1mL\times20</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>	成分	十孔盒包装	大肠杆菌DH5 α 化学感受态细胞	0.1mL \times 20	使用手册	1 份																		
成分	十孔盒包装																								
大肠杆菌DH5 α 化学感受态细胞	0.1mL \times 20																								
使用手册	1 份																								
<p>运输及保存</p>	<p>干冰运输、-80$^{\circ}$C 保存，有效期半年。</p>																								
<p>使用方法</p>	<ol style="list-style-type: none"> 取感受态细胞置于冰浴中。一次转化感受态细胞的建议用量为 50-100μl，可以根据实际情况分装使用。 以下实验以 50 μl 感受态细胞为例。 待感受态细胞融化后，向感受态细胞悬液中加入目的 DNA（根据实际情况加入适量的 DNA，通常 100 μl 感受态细胞能够被 1 ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和），用移液器轻轻吹打混匀，冰浴 30 分钟。 42$^{\circ}$C 热击 45 秒，迅速将离心管转移到冰浴中，冰上静置 2-3 分钟。 每个离心管中加入 450 μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基（不含抗生素），混匀后置于 37$^{\circ}$C 摇床，150 rpm 振荡培养 45 分钟使菌体复苏。 根据实验需求，取适量已转化的感受态细胞，加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上，用无菌的涂布棒将细胞均匀涂开，将平板置于 37$^{\circ}$C 直至液体被吸收， 																								

倒置培养，37℃培养 12-16 小时。

注意：

- 1 涂布用量可根据具体实验调整。若转化的 DNA 总量较多，可取少量转化产物涂布平板；若转化的 DNA 总量较少，可取 200-300 μ l 转化产物涂布平板。若预计的克隆数较少，可通过离心（4,000 rpm ，2 分钟）后吸除部分培养液，悬浮菌体后将其涂布于平板中。
 - 2 新制备的固体培养基不易涂干，可将平板正置于 37℃直至液体被吸收后再倒置培养。
 - 3 涂布剩余的菌液可置于 4℃保存，如果次日的转化菌落数过少，可以将剩下的菌液再涂布新培养基进行培养。
-