DH5α化学感受态细胞

C502

Vazyme

产品概述

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) 减少了插入片段的同源重组概率,保证了插入DNA的稳定性; $lacZ\Delta$ M15的存在使DH5α可用于蓝白斑筛选。本公司DH5α感受态细胞经过特殊工艺制作,使用pUC19质粒DNA检测,转化效率≥10 8 cfu/μg。

Version 21.1

产品组分

组 分	C502-02	C502-03
DH5α Competent cell	10 × 100 μl	20 × 100 μl

保存条件

-85~-65℃保存,干冰运输。

适用范围

实验室常用感受态细胞,适合PCR产物、cDNA以及其他来源的非甲基化DNA的高效转化,适用于质粒转化、基因克隆、蓝白斑筛选等用途。

质量控制

无外源质粒DNA残留;

无抗性基因;

转化效率≥108 cfu/µg pUC19质粒DNA。

产品特性

- DH5α品系, 经典克隆菌株;
- 适合PCR产物、cDNA以及其他来源的非甲基化DNA的高效转化;
- endA1, RecA1突变,确保外源DNA在宿主菌中的稳定性,有利于高质量质粒DNA提取;
- $IacZ\Delta$ M15使DH5α可用于对重组质粒进行蓝白斑筛选;
- 转化效率≥108 cfu/µg pUC19质粒DNA;
- 生长速度快。

注意事项

- 1. 感受态细胞冰水浴中解冻后应立即使用,长时间放置会降低转化效率。
- 2. 待转化DNA加入体积不要超过感受态细胞体积的1/10。
- 3. 加入质粒或连接产物后,请勿用移液枪吸打,轻弹混匀即可。
- 4. 避免将感受态细胞反复冻融。

实验流程

- 1. 将感受态细胞从-70℃拿出,迅速置于冰上融化。
- 2. 将待转化DNA加入到100 μl感受态细胞中,轻弹管壁混匀(避免用枪吸打),冰上静置30 min。
- 3. 42°C水浴热激45 sec后,迅速置于冰上静置2 min,切勿摇动离心管。
- 4. 向离心管中加入900 μl LB或SOC液体培养基(不含抗生素),混匀后置于37°C, 200 rpm摇床中复苏1 h。
- 5. $5,000 \text{ rpm} (2,500 \times g)$,离心3 min,弃掉 900μ L上清,用剩余培养基将菌体重悬后,均匀涂布在含相应抗生素的LB固体培养基平板上。
- 6. 将平板正置于37℃培养箱10 min, 待菌液被完全吸收后, 倒置平板, 过夜培养。

附录一:常用抗生素工作浓度

	工作浓度
Ampicillin	100 μg/ml
Carbenicillin	100 μg/ml
Chloramphenicol	33 μg/ml
Kanamycin	30 μg/ml
Streptomycin	25 μg/ml
Tetracyline	15 μg/ml

附录二:DNA中的转化抑制物种类及去除方式

转化抑制物	去除方式
Detergents	乙醇沉淀
Phenol	酚氯仿抽提及乙醇沉淀
Ethanol or Isopropanol	DNA溶解前彻底晾干
PEG	柱式纯化或酚氯仿抽提及乙醇沉淀
DNA binding proteins	柱式纯化或酚氯仿抽提及乙醇沉淀