

## 产品简介

DH5 $\alpha$  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 DH5 $\alpha$  可用于蓝、白斑筛选。DH5 $\alpha$  感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率  $>5 \times 10^8$  cfu/ $\mu$ g DNA。

## 产品特点

- ❖ DH5 $\alpha$  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；
- ❖ lacZ $\Delta$ M15 使 DH5 $\alpha$  可用于对重组质粒进行蓝白斑筛选；
- ❖ 转化效率  $\geq 10^8$  cfu/ $\mu$ g pUC19 质粒 DNA；
- ❖ 生长速度快。

## 产品组成

组分	CC301 (10 支)	CC301 (20 支)
DH5 $\alpha$ Chemically Competent Cell	10 $\times$ 100 $\mu$ l	20 $\times$ 100 $\mu$ l

## 产品应用

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  $\geq 10^8$  cfu/ $\mu$ g pUC19 质粒 DNA。

## 储存条件

本产品应置于 -80 $^{\circ}$ C 储存，干冰运输，勿置于 -20 $^{\circ}$ C 或液氮中保存。

## 实验方案

1. DH5 $\alpha$  感受态细胞从-80°C拿出，迅速插入冰中，15 min 后待菌块融化，加入目的 10  $\mu$ l DNA (质粒或连接产物)，边加入边转动枪头 (顺时针 5 圈)，轻轻混匀 (避免用枪吸打)，冰中静置 30 min。
2. 42°C准确热激 90 sec，迅速放回冰中并静置 5 min，晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 800  $\mu$ l 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB)，混匀后 37°C，200 rpm 复苏 45 min。
4. 3500 rpm 离心 3 min 收菌，吸出 800  $\mu$ l，留 100  $\mu$ l 左右上清，轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37°C培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作，将平板放 37°C培养至少 15 h。

## 注意事项

- ❖ 感受态细胞冰水浴中解冻后应立即使用。
- ❖ 混入质粒或连接产物时应轻柔操作。
- ❖ 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。

## 附录

### 常用抗生素浓度

抗生素类型	工作浓度
Ampicillin	100 $\mu$ g/ml
Carbenicillin	100 $\mu$ g/ml
Chloramphenicol	33 $\mu$ g/ml
Kanamycin	30 $\mu$ g/ml
Streptomycin	25 $\mu$ g/ml
Tetracycline	15 $\mu$ g/ml

### DNA 中的转化抑制物及去除方式

转化抑制物类型	去除方式
Detergents	乙醇沉淀
Phenol	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