

DH5a感受态细胞

目录号	规格
CD101-01	10×100 μl
CD101-02	20×100 μl

●储存条件

-70℃保存；干冰运输。

●产品简介

采用大肠杆菌DH5a菌株经特殊工艺制备得到的感受态细胞，用于DNA的化学转化。使用pUC19 质粒检测，转化效率可达10<sup>8</sup>，-70℃保存几个月转化效率不发生改变。

每支感受态细胞可以减半分装使用，降低了实验的成本。质量稳定，使用方便，质优价廉。

●DH5a菌株介绍

基因型F-  $\phi$ 80  
*lacZ*Δ*M15*Δ(*lacZYA-argF*)U16  
*9 deoR recA1 endA1*  
*hsdR17*(r<sub>K</sub><sup>-</sup>, m<sub>K</sub><sup>+</sup>) *phoA supE44*  
 $\lambda$ - *thi-1 gyrA96 relA1*

- ✓ 转化效率高达10<sup>8</sup> cfu/μg DNA以上。
- ✓ 使用pUC系列质粒载体转化时，可与载体编码的β-半乳糖苷酶氨基端实现α互补，可蓝白斑筛选克隆。

●注意事项

1. 感受态细胞应保存在 -70℃，不可反复冻融，以免降转化效率。
2. 进行转化操作时，应保持无菌条件。

●操作步骤

以下操作均按无菌条件的标准进行

1. 将感受态细胞置于室温融化，融化后立即置于冰水浴中。如需分装可将刚融化的感受态细胞分装到预冷的无菌离心管中，置于冰水浴中。

▲每次转化感受态细胞的建议用量为50-100 μl，可以根据实际情况分装使用；分装时应缓慢吸取感受态细胞，并且缓慢打入预冷的无菌离心管中。

▲待转化的DNA 体积不应超过感受态细胞体积的1/10。

《以下步骤》

以100 μl感受态细胞为例进行操作：

2. 向融化的感受态细胞中加入待转化的DNA(100 μl感受态细胞能够被1 ng超螺旋质粒DNA 所饱和)，轻轻旋离心管以混匀内容物，在冰水浴中静置30 min。

3. 将离心管置于42℃水浴中放置60—90秒，立即将离心管转移到冰水浴中，静置2-3 min。

4. 加入400 μl -900 μl 不含抗生素的无菌的SOC或LB培养基，固定在37℃摇床中，150 rpm振荡培养45 min。

5. 吸取100 μl 培养液加到含相应抗生素的SOB 或LB 固体琼脂平板上，用无菌的弯头玻棒轻轻的将细胞均匀涂开。

▲可根据转化的DNA的量调整涂布的培养液的体积。

▲如果预计的克隆较少，可将培养液3,000×g离心5 min，吸除部分离心上清（约剩200 μl），悬浮菌体后涂布到平板。

6. 将平板置于室温直至液体被吸收，倒置平板，37℃培养12-16 h。