

产 品 说 明 书

产品名称：DH5 α 感受态细胞

产品货号：XK001

产品组分

组分	XK001-01	XK001-02
DH5 α Competent cell	10 \times 100 μ l	100 \times 100 μ l
pUC19 (0.1ng/ μ l)	5 μ l	5 μ l

基因型

- ϕ 80 lac Z Δ M15 Δ (lacZYA-arg F) U169 endA1 recA1 hsdR17(rk-,mk+) supE44 λ - thi -1 gyrA96 relA1 phoA

储存条件

-80 $^{\circ}$ C保存 6 个月，避免反复冻融。

产品简介

本公司生产的 DH5 α 感受态细胞是采用大肠杆菌 DH5 α 菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞，可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测，转化效率可达 10⁹ cfu/ μ g，-80 $^{\circ}$ C保存几个月转化效率不发生改变。是一种用于铺制与培养质粒平板和粘粒平板的重级缺陷的抑制型株。其 ϕ 80 lacZ Δ M15 基因的产物可与 pUC 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。

适用范围

适用于 DNA 的化学转化、蓝白斑筛选等实验。

注意事项

1. 感受态细胞应保存在-80 $^{\circ}$ C，不可多次冻融和放置时间过长，以避免降低感受态细胞的转化效率。
2. 进行转化操作时，应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
3. 为防止转化实验不成功，可以保留部分连接反应液，以重新转化，将损失降到最低。
4. 感受态细胞应插入冰上缓慢融化（请勿用手握化）后立即加入目的 DNA,此时转化效率最高（感受态细胞融化后长时间置于冰上不加目的 DNA 会降低转化效率）。
5. 目的 DNA 不能超过感受态总体积的 1/10.
6. 微量目的 DNA 转化时，建议按照常规转化方法进行。

操作步骤

1. 取感受态细胞置于冰浴中，如需分装可将刚融化细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中，置于冰浴中。
(一次转化感受态细胞的建议用量为 50-100 μ l，可以根据实际情况分装使用。应注意所用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一。) 以下实验以 100 μ l 感受态细胞为例。
2. 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA，轻轻旋转离心管以混匀内容物，在冰浴中静置 30 分钟。
3. 将离心管置于 42 $^{\circ}$ C 水浴中放置 60 秒，然后快速将管转移到冰浴中，使细胞冷却 2 分钟，该过程不要摇动离心管。
(此步骤也可将离心管置于室温进行，时间不需十分准确，夏季或室温较高时，可放置 5-8 分钟左右；如果室温较低，可延长时间至 8-15 分钟左右。**条件允许建议使用 42 $^{\circ}$ C 热激方法。**)
4. 向每个离心管中加入 500 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素)，混匀后置于 37 $^{\circ}$ C，150rpm，摇床振荡培养 60 分钟，目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达，使菌体复苏。
5. 无菌条件下，取适量菌液加到含相应抗生素的 LB 固体培养基平板上，用无菌的细菌涂布器或玻璃珠将细胞均匀涂开。等平板中的液体完全吸收后，倒置平板，37 $^{\circ}$ C 培养 12-16 小时。(涂布用量可根据具体实验来调整。转化质粒在 10ng 左右，90mm 平皿涂布 100 μ l，55mm 平皿涂布 50 μ l；连接产物的转化菌液建议离心后倒掉大部分上清，余 200 μ l，取 100 μ l 用于涂布。)
6. 保留剩余的菌液于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中，视平板上菌落生长情况决定去留。
(**质粒快速转化步骤**：将步骤 2 的时间缩短到 5 分钟，对于氨苄青霉素抗性的质粒，步骤 3 完成后，直接涂布或划线于含氨苄青霉素抗性的 LB 平板上。其它抗性的质粒仍需 60 分钟的复苏培养。)

常见问题与解决办法

Q1: 转化后平板不长菌或长菌数较少?

A1:

- 1) 上游连接效率较低。建议检查上游插入片段质量、连接比例、反应温度及时间是否合适;
- 2) 感受态细胞失效或效率降低。使用新鲜感受态细胞，感受态请勿反复冻融，建议使用本产品中附带 pUC19 质粒做一组阳性对照实验;
- 3) 抗生素存在问题。检查抗生素是否失效，抗生素种类、用量是否正确，建议重新配制平板重复实验。

Q2: 转化后平板出现卫星菌落或杂菌?

A2:

- 1) 抗生素存在问题。检查抗生素是否失效，用量是否正确，氨苄抗性可适当提高抗生素浓度;
- 2) 培养温度或时间不合适。检查培养箱温度，37 $^{\circ}$ C 培养时间不宜过长;
- 3) 存在污染。感受态细胞在操作过程中被污染，建议做一组阴性对照实验 (不加 DNA 只转化空感受态于抗性平板) 检查操作过程是否污染了相同抗性的菌株。若存在污染，建议更换试剂及耗材，可使用核酸清洁剂 (目录号: ND709) 对实验台面、环境进行清洁。