

## DH5 $\alpha$ Chemically Competent Cell

### DH5 $\alpha$ 感受态细胞

产品编号	产品名称	规格
BL1288A	DH5 $\alpha$ 感受态细胞	25 $\times$ 100 $\mu$ L
BL1288B	DH5 $\alpha$ 感受态细胞	100 $\times$ 100 $\mu$ L

#### 产品简介:

DH5 $\alpha$ 感受态细胞是一种可以用于常规质粒高效转化的质粒克隆化学感受态细胞，是实验室较为常用的大肠杆菌菌株之一，广泛用于基因克隆，蓝白筛选，质粒稳定扩增等分子生物学实验。该菌株缺失核酸内切酶(*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 是表达 $\beta$ -半乳糖苷酶 $\alpha$ 片段的一段基因，当 M15 缺失( $\Delta$ M15)时，*lacZ* 基因虽然能表达 $\omega$ 片段，但不能表达 $\alpha$ 片段， $\beta$ -半乳糖苷酶没有活性。当带有 *lacZ*( $\alpha$ 片段)基因的 *lac* 操纵子通过载体 DNA(如 pUC19)转化到 *lacZ* $\Delta$ M15 基因型的感受态(如 DH5 $\alpha$ )时，在有 IPTG (异丙基- $\beta$ -D-1-硫代半乳糖苷)存在的情况下，IPTG 作为乳糖的类似物与 *lacI* 阻遏蛋白结合而使 *lac* 操纵子不被抑制，从而利用 $\alpha$ -互补性产生完整的 $\beta$ -半乳糖苷酶， $\beta$ -半乳糖苷酶可分解底物 X-gal (半乳糖类似物)，使其呈现蓝色。因此，DH5 $\alpha$ 感受态可用于蓝、白斑筛选。使用 pUC19 质粒进行热激活转化，转化效率可以高达  $5\times 10^8$  cfu/ $\mu$ g DNA 以上。

#### 产品组分:

组分名称	BL1288A	BL1288B
DH5 $\alpha$ 感受态细胞	25 $\times$ 100 $\mu$ L	100 $\times$ 100 $\mu$ L

**基因型:** F<sup>-</sup>  $\phi$ 80*lacZ* $\Delta$ M15  $\Delta$ (*lacZYA*-*argF*) U169 *recA1 endA1 hsdR17*(rk<sup>-</sup> mk<sup>+</sup>) *phoA supE44 thi-1 gyrA96 relA1*  $\lambda$ -

#### 使用方法:

1. 将感受态细胞从-80 $^{\circ}$ C中取出，置于冰水浴中融化，约 5-10 min，放置时间过长会影响转化效率；

2. 将待转化的 DNA 样品(约 10  $\mu$ L)加入到 100  $\mu$ L 感受态细胞中，轻轻弹匀，冰上孵育 30 min；

**注:** 待转化 DNA 样品加入体积通常不宜超过感受态细胞体积的 10%。

加入待转化 DNA 样品后应轻柔操作，避免使用移液枪吹打混匀。

如果用于质粒的转化扩增，冰浴静置约 10 min 后可以直接涂板并培养过夜；如果用于连接产物或重组产物的转化，建议冰浴静置 30 分钟并严格执行后续的热激处理和复苏培养等步骤，以提高转化效率。

3. 将冰浴后的离心管置于 42 $^{\circ}$ C水浴锅中，静置热激 90 s 后，立刻置于冰水浴中静置 2-3 min；

**注:** 热激及转移至冰浴过程中请勿晃动离心管。

4. 向离心管中加入 900  $\mu$ L LB 或 SOC 培养基(室温或 37 $^{\circ}$ C预热)，然后置于 37 $^{\circ}$ C摇床约 220rpm，复壮 45 min；

5. 如果用于质粒的转化扩增，建议直接取 50-100  $\mu$ L 进行涂板即可；如果用于连接产物或重组产物的转化，建议先 5000 g, 1 min 室温离心沉淀细菌，吸除约 900-950  $\mu$ L 上清，然后用剩余的约 50-100  $\mu$ L 菌液重悬，涂布到含相应抗生素的 LB 平板上；

6. 将平板倒置放于 37 $^{\circ}$ C培养箱培养过夜。

**注:** 培养前需要将平板在超净台中稍微晾至无明显水渍，有利于形成单克隆。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



**注意事项:**

1. 感受态细胞冰水浴中解冻后应立即使用。
2. 加入的待转化 DNA 的总体积不应超过感受态细胞体积的 1/10。
3. 加入待转化 DNA 后，不要用移液器吹吸感受态细胞，仅用手指轻弹即可。
4. 为确保最高转化效率，整个操作过程中除热激外均要保持低温，并且要尽量轻柔。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期:**

-80 °C保存 12 个月；请勿将本品置于-20 °C或者液氮中保存。

