

# DH5 $\alpha$ Chemically Competent Cell

#CS01010	10 $\times$ 100ul
#CS01020	20 $\times$ 100ul

贮存 -80 $^{\circ}$ C

**概述:** DH5 $\alpha$ 菌株是目前最常用的克隆感受态细胞之一。E.coli DH5 $\alpha$ 在使用 pUC 系列质粒载体进行 DNA 转化时, 由于载体 DNA 产生的 LacZ $\alpha$ 多肽和 DH5 $\alpha$ 编码的 lacZ $\Delta$ M15 相结合, 从而显示 $\beta$ -半乳糖苷酶活性 ( $\alpha$ -互补性)。利用这一特性, 可以很容易鉴别重组体菌株。DH5 $\alpha$ 可以用于制作基因库、进行亚克隆等, 由于 DH5 $\alpha$ 具有 decR 变异, 可以作为较大质粒的宿主菌使用。经 pUC19 检测转化效率达 10<sup>9</sup> cfu/ $\mu$ g DNA。

## 基因型:

F-  $\phi$ 80dlacZ $\Delta$ M15  $\Delta$ (lacZYAargF)U169 deoR recA1 endA1 hsdR17(rk-mk+) phoA supE44  $\lambda$ -, thi-1 gyrA96 relA1

## 操作方法

- DH5 $\alpha$ 感受态细胞从-80 $^{\circ}$ C拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用枪轻轻吹打混匀, 冰中静置 25 分钟。
- 42 $^{\circ}$ C水浴热激 90 秒, 迅速放回冰上并静置 5 分钟。
- 向离心管中加入 500 $\mu$ L 不含抗生素的无菌培养基 (SOC 或 LB 培养基), 混匀后 37 $^{\circ}$ C, 200rpm 复苏 60 分钟。
- 3000rpm 瞬时离心收菌, 留取 100 $\mu$ L 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含所选质粒筛选抗生素的 LB 培养基上。
- 将平板倒置放于 37 $^{\circ}$ C培养箱过夜培养。

## 注意事项

- 感受态细胞最好在冰中缓慢融化, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。
- 混入质粒时应轻柔操作。
- 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。