



# DH5α 电转感受态细胞

## 产品信息：

组成	BC405-01
DH5α Electrocompetent cells	20×50μl
pUC19 (0.1ng/μl)	5μl

**储存条件：** -70℃保存，避免反复冻融。

## 产品说明：

DH5α菌株是实验室最常用的感受态细胞。DH5α电击感受态细胞只能用于电击转化，不能用于热激转化。缺失核酸内切酶(endA1)，提高了质粒 DNA 的产量和质量；重组酶缺陷型(recA1)减少插入片段的同源重组概率，保证了插入 DNA 的稳定性；由于 lacZΔM15 的存在以及 lacI<sup>q</sup>基因的缺失，故不需要加 IPTG，只需要添加 X-gal 就可进行基于α互补原理上的蓝白斑筛选实验。感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率大于 10<sup>10</sup> cfu/μg DNA。

## 基因型：

*F'φ80dlacZ ΔM15,Δ(lacZYA -argF)U169deoRecA1endA1hsdR17 (rK<sup>-</sup>, mK<sup>+</sup>) phoAsupE44 λ:thi -IgyrA96 relA1*

**菌株抗性：** 对氨苄青霉素，卡那霉素，链霉素，四环素和壮观霉素敏感。

## 操作方法：

1. 电极间距为 0.1cm 的电转杯 (Gene Pulser®/MicroPulser™ electroporation cuvettes) 插入碎冰中，压实冰面，冰中静置 5 分钟，使电转杯充分降温。(电转杯重复使用方法：每次用完后，用大量的自来水冲洗干净去掉菌液和 DNA，用蒸馏水洗 3 遍，将其泡在 75%乙醇中 30 分钟，取出杯子，沥干液体，放在超净台中，使乙醇充分挥发，盖上盖子放干燥地方备用。)
2. 取-70℃保存的感受态细胞插入冰中，待细胞刚化冻后，加入质粒 DNA 或连接产物(洗脱或溶解质粒的溶液中离子不能太高，或用双蒸水稀释，对照 pUC19 可以用无菌水稀释到 10pg/μl)，用手指拨打管底轻轻混匀，立即插入冰中，在超净台中用无菌吸头将细胞/DNA 混合物快速转移到电击杯中，避免产生气泡，确保细胞沉到杯底，盖上杯盖，空管保留待用。
3. 启动电转仪，设置电击参数: 2.4kV, 200Ω, 25μF (BTX ECM 630或Bio-Rad GenePulser)。用纸巾擦掉电转杯外部的水分，将电转杯放入电转槽中进行电击。完成后，将电转杯插入冰中，加入950μl无抗生素的SOC或LB培养基，并将液体转移到原来保留的感受态空管中，37℃，150-250rpm振荡培养1小时。
4. 取 100-200μl 左右的菌液或稀释后的菌液，涂布于含相应抗生素的 LB 平板上，倒置放于 37℃培养箱培养 12-18 小时。

**注意事项:**

1. 电转杯必须预冷。
2. 感受态细胞应该在冰水浴中化冻，加入 DNA 后应轻柔混匀，加入 DNA 的体积小于细胞体积的 1/10。
3. 一旦 DNA 加入到细胞中，电击操作应该立即进行。
4. DNA 应该溶解在水或 TE 中，连接酶的存在会降低转化效率，必要时需纯化连接产物。
5. 电击时，电转杯中的气泡、含高浓度盐离子的 DNA 或转化产物会导致电弧现象的发生。
6. 电击完成后应该立刻加上 LB 或 SOC 等复苏培养基，每分钟延迟加入会导致 3 倍转化效率的降低。

BM190325