



DH5 α -T1感受态细胞

产品信息:

组成	BC121-01	BC121-02
DH5 α -T1	10 \times 100 μ l	20 \times 100 μ l
pUC19 质粒	5 μ l	5 μ l

储存条件: -70 $^{\circ}$ C 保存，避免反复冻融。不适合在液氮中保存。

产品介绍:

DH5 α -T1为常规DH5 α 改进型菌株。缺失核酸酶（*endA1*）基因，提高质粒的产量和质量；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*lacZ* Δ M15的存在以及*lacIq*基因的缺失，故不需要加IPTG，只需要添加X-gal就可以进行基于 α 互补原理上的蓝白斑筛选实验。DH5 α -T1在基因组*tonA*区域的突变使菌株获得抵抗T1和T5噬菌体感染的能力。

DH5 α -T1感受态细胞由特殊工艺制成，pUC19质粒检测转化效率高达10⁸cfu/ μ g DNA。

基因型: F- ϕ 80*lacZ* Δ M15 Δ (*lacZYA-argF*)U169 *recA1 endA1 hsdR17*(rk-, mk+) *phoA supE44 thi-1 gyrA96 relA1 tonA*

菌株抗性: 对氨苄青霉素、卡那霉素、壮观霉素、博来霉素、庆大霉素、氯霉素和四环素敏感。

质粒转化步骤: (以氨苄青霉素抗性的 pUC19 质粒为例)

1. 将感受态细胞置于冰水浴中化冻。待细胞刚化冻后，加入 1-5 μ l 含有 1-100ng 的质粒 DNA 到细胞中，用手指拨打管底，轻轻混匀。
2. 冰水浴中放置 30 分钟，不要晃动。
3. 42 $^{\circ}$ C 热击 60 秒钟，不要晃动。
4. 冰水浴中放置 2 分钟，不要晃动。
5. 加入 500 μ l 的室温的 SOC 或 LB 培养基。
6. 置于 37 $^{\circ}$ C 摇床中，150-200rpm，复苏培养 60 分钟。
7. 取 50-100 μ l 菌液涂布在含有氨苄青霉素抗性的 LB 平板上。待液体吸干后，倒置平板 37 $^{\circ}$ C 培养 12-24 小时。

(**平板划线分离法:** 复苏培养结束后，12000rpm 离心 30 秒钟，弃掉上清，留 100 μ l 左右的液体，用 200 μ l 吸头轻轻吹打散菌块，取 10 μ l 重悬的菌液分多点滴在平板上，倾斜吸头，用吸头头部的侧面将滴在平板上的液体来回划线。这个方法可以获得更大的单克隆菌落。)

注意事项:

1. 化冻的感受态细胞不能长时间放置，影响转化效率；
2. 感受态细胞避免反复冻融；
3. 操作过程要轻柔，避免用移液枪反复吹打；
4. 整个转化过程应注意无菌操作，避免污染。

相关试剂配置表:

SOC 培养基	2%	Tryptone
	0.5%	Yeast Extract
	10mM	NaCl
	2.5mM	KCl
	10mM	MgCl ₂
	10mM	MgSO ₄

SOC 培养基: SOB+20mM 葡萄糖

LB 培养基	1%	Tryptone
	0.5%	Yeast Extract
	1%	NaCl
	1.5%	Agar

BM190918