

DH5 α 电击感受态细胞

DH5 α Electroporation-Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G27001

保存条件: -80℃

产品规格: 5×50 μ l 20×50 μ l

产品介绍

基 因 型

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

简 要 说 明

MLBioDH5 α 电击感受态细胞只能用于电击转化，不能用于热激转化。

MLBio-DH5 α 菌株是实验室最常用的感受态细胞。

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 Δ M15 的存在使 DH5 α 可用于蓝、白斑筛选。

MLBio-DH5 α 电击感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率可达 1×10^{10} cfu/ μ g DNA。

操 作 说 明

1.0.1cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5 分钟，待其沥干水分，正置 5 分钟，使乙醇充分挥发，待乙醇挥发干净立即插入冰中，压实冰面，电极杯顶离冰面 0.5 cm 以方便盖上杯盖，冰中静置 5 分钟充分降温。

2.取-80℃保存的 DH5 α 电击感受态细胞插入冰中 5 分钟，待其融化，加入目的 DNA (质粒或连接产物)并用手拨打 EP 管底轻轻混匀，避免产生气泡，立即插入冰中。

A. 测定转化效率使用 1μ l 10 pg/ μ l 的对照质粒 pUC19;

B. 对于连接产物，请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液 (10mM TrisHCl, pH7.5;1mM EDTA)重悬，DNA 浓度不超过 100ng/ μ l，体积不超过 5 μ l/50 μ l 感受态

3.用 200 μ l 枪头将感受态-DNA 混合物快速移到电击杯中，避免产生气泡，盖上杯盖。

4.启动电转仪，设置参数： $C=25\ \mu F$ ， $PC=200\ \Omega$ ， $V=1.8kV$ (此为 BioRad 电转仪推荐参数，也可按所用电转仪推荐的参数操作)，将电击杯快速放入电转槽中，电击完成快速插入冰中。

5. 2 分钟后从冰中取出电击杯，放室温，加入 $700\ \mu l$ 不含抗生素的无菌 S.O.C. 培养基（室温），用 $1ml$ 枪吹吸电击杯底部数次混匀后，转移到 $50ml$ 离心管（BD Falcon $50ml$ 锥形离心管等），向离心管中补加 S.O.C. 培养基至 $5ml$ 。 $37^{\circ}C$ ， $225\ rpm$ 复苏 60 分钟。

6. $5000rpm$ 离心一分钟收菌，重悬后取 $100-200\ \mu l$ 涂布到含相应抗生素的 S.O.C 平板上（因菌量较大，若全部涂板请选用直径 $15cm$ 培养皿 2-5 个）。将平板倒置放于 $37^{\circ}C$ 培养箱过夜培养 13-17 小时。

注 意 事 项

1. MLBio 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 $1/10$ 。
2. 电击感受态细胞加入电击杯应避免产生气泡，气泡会增加弧光放电风险。
3. 当 DNA 不纯或存在盐，乙醇，蛋白及缓冲液等污染时，转化效率急剧下降。
4. 电击杯里的离子可增加溶液的电导，增大在含有细胞和 DNA 的溶液中产生电流和弧光放电的风险。
5. 若转化大质粒或想获得较高转化效率，推荐使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒。质粒增大一倍，转化效率下降一个数量级。
6. 对于连接产物转化，最好转化前乙醇沉淀 DNA 后用适量 TE 缓冲液 ($10\ mM TrisHCl, pH7.5; 1\ mM EDTA$) 重悬产物，保证 DNA 浓度不超过 $100ng/$

μl。过高浓度连接产物或过大体积连接产物会降低转化效率，增加弧光放电的风险。

7. 混入质粒时应轻柔操作，吸取感受态细胞时不可用孔径过小的枪头 (普通 200ul 枪头应剪去枪头尖 0.6cm)避免用力过猛，以免剪切力过大损伤细胞膜，降低转化效率。转化高浓度的质粒或连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
8. 电击感受态细胞最好保存在-80℃以下，高于-80℃超期储存会导致转化效率会下降。