

## DH5 $\alpha$ 超级感受态细胞说明书

### 01. 产品概述

纳克生物生产的 DH5 $\alpha$ 超级感受态细胞 (DH5 $\alpha$  Super Competent Cells) , 采用本公司自主研发的高效感受态制备缓冲液体系, 转化效率可达电转化水平, 使用 pUC19 质粒 DNA 检测, 转化效率高达  $1.2 \times 10^{10}$  cfu/ $\mu$ g。该产品对四环素不敏感, 适用于除四环素抗性外的大多数质粒的转化实验。DH5 $\alpha$ 超级感受态细胞含有的 (*lacZ*) $\Delta$ M15 使其能够用于蓝白斑筛选, *recA1*、*endA1*、*deoR* 的存在, 能够使插入的外源 DNA 更加稳定, 有利于 DNA 转化。DH5 $\alpha$ 超级感受态细胞可广泛应用于常规分子克隆、蓝白斑筛选、珍贵核酸样本转化以及 DNA/cDNA 文库构建等多种实验场景, 在转化效率和稳定性方面表现出优异性能。

### 02. 基因型

F<sup>-</sup>  $\phi$ 80(*lacZ*) $\Delta$ M15  $\Delta$ (*lacZYA-argF*)U169 *recA1 endA1 hsdR17*(r<sub>K</sub>,m<sub>K</sub><sup>+</sup>) *phoA supE44*  $\lambda$  *thi-1 gyrA96 relA1 deoR*

### 03. 产品规格

组分	规格 1 (NG-CV0001-10 $\times$ 100 $\mu$ L)	规格 2 (NG-CV0001-100 $\times$ 100 $\mu$ L)
DH5 $\alpha$ Super Competent Cells	20 $\times$ 100 $\mu$ L	100 $\times$ 100 $\mu$ L
pUC19 (control vector)	10 $\mu$ L(10 pg/ $\mu$ L)	10 $\mu$ L(10 pg/ $\mu$ L)

### 04. 产品特性

转化效率高, 转化效率 >  $10^{10}$ cfu/ug。

快速转化, Amp 抗性质粒转化仅需 10 min, Kana 抗性质粒仅需 30 min。

### 05. 操作方法

#### 常规转化流程

1、取出 100  $\mu$ L 感受态细胞, 迅速插入冰中, 待其自然融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物), 轻轻混匀 (轻柔吹打或轻弹管壁数下), 冰上静置 30 min。

- 2、42°C 水浴热激 45 ~ 60 s, 迅速转移至冰浴中, 静置 2 min (冰上静置过程中请勿晃动样品, 否则会降低转化效率)。
- 3、向离心管中加入 700  $\mu$ L LB 或 SOC (不含抗生素), 混匀后 37°C, 200 rpm 复苏 1 h。
- 4、根据实验需要, 取合适体积的复苏液均匀涂布到含相应抗生素 LB 固体培养基平板上, 将平板倒置放于 37 °C 培养箱过夜培养。

### 快速转化流程 (以 Amp 抗性质粒为例)

- 1、取出 100  $\mu$ L 感受态细胞, 迅速插入冰中, 待其自然融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物), 轻轻混匀 (轻柔吹打或轻弹管壁数下), 冰上静置 5 min。
- 2、42°C 水浴热激 45 ~ 60 s, 迅速转移至冰浴中, 静置 2 min (冰上静置过程中请勿晃动样品, 否则会降低转化效率)。
- 3、向离心管中加入 700  $\mu$ L LB 或 SOC (不含抗生素), 取合适体积的复苏液均匀涂布到含 Amp 抗生素的 LB 固体培养基平板上, 或者不加 LB 或 SOC (不含抗生素) 直接涂布, 37°C 培养箱倒置过夜培养。

【注】如进行 Kana 抗性质粒转化必须添加 LB 或 SOC (不含抗生素), 37°C 、200 rpm 复苏 20 min。

### 06. 注意事项

- 1、感受态细胞冰水浴中解冻后应立即使用, 长时间放置会降低转化效率。
- 2、待转化 DNA 加入体积不要超过感受态细胞体积的 1/10。
- 3、加入质粒或连接产物后, 需轻柔混匀。
- 4、避免将感受态细胞反复冻融。
- 5、如转化高浓度质粒可以减少相应涂布的菌量, 避免菌落过密。

### 07. 保存条件 (保质期)

-80°C (6 个月), 干冰运输。

### 08. 质控标准

- 1、使用 pUC19 质粒 DNA 进行转化时, 每 100  $\mu$ L 的 DH5 $\alpha$  超级感受态细胞转化效率  $\geq 10^{10}$  cfu/ $\mu$ g。
- 2、100  $\mu$ L 的 DH5 $\alpha$  超级感受态细胞分别在含有 Amp、Kana 的 LB 固体培养基上过夜培养 40 h 不产生菌落。