

## DH5 $\alpha$ 感受态细胞说明书

**货号:** AC10812

**规格:** 10 $\times$ 100ul / 20 $\times$ 100ul

**保存:** -70 $^{\circ}$ C 保存, 运输为干冰包装。自收货之日起液氮保存至少一年, -70 $^{\circ}$ C 保存至少 6 个月。

### 产品简介:

本公司生产的 DH5 $\alpha$ 感受态细胞是采用大肠杆菌 DH5 $\alpha$ 菌株经特殊工艺制备得到, 可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测, 转化效率可达 10<sup>8</sup>, -70 $^{\circ}$ C 保存 3-5 个月转化效率不发生改变。

**基因型:** supE44 $\Delta$ lacU169 ( $\phi$ 80 lacZ $\Delta$ M15) hsdR17 recA1 end A1 gyrA96 thi-1 relA1

**特点:** 一种用于铺制与培养质粒平板和粘粒平板的重组缺陷的抑制型菌株。其  $\phi$ 80 lacZ $\Delta$ M15 基因的产物可与 pUC 载体编码的  $\beta$ -半乳糖苷酶氨基端实现 $\beta$ 互补, 可用于蓝白斑筛选。

### 操作方法: (以下操作均按无菌条件的标准进行)

- 1、将感受态细胞置于冰上融化, 以下实验以 100ul 感受态细胞为例。
- 2、向感受态细胞悬液中加入需转化的目的 DNA, 注意目的 DNA 的体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一, 轻轻旋转离心管以混匀内容物, 冰浴放置 30 分钟。
- 3、将离心管置于 42 $^{\circ}$ C 水浴中 60-90 秒, 然后快速转移到冰浴中放置 2-3 分钟, 注意不要摇动离心管。
- 4、向离心管中加入 500ul 无菌无抗的 SOC 或 LB 培养基, 37 $^{\circ}$ C 180rpm 振荡培养 1 小时。目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
- 5、取适量已转化的感受态细胞涂布含相应抗生素的 SOC 或 LB 平板, 37 $^{\circ}$ C 倒置培养 12-16 小时。涂布用量可根据具体实验来调整, 如转化的 DNA 总量较多, 可取 100ul 左右的转化产物涂板; 反之, 如转化的 DNA 总量较少, 可取 200-300ul 的转化产物涂板。过多菌液可以抑制细菌生长。如果预计的克隆较少, 可通过离心后吸除部分培养液, 悬浮菌体后将其涂布于一个平板中。涂布剩余的菌液可 4 $^{\circ}$ C 保存, 如果次日的转化菌落数过少, 可以将剩下的菌液再涂布新的平板。

### 注意事项:

- 1、感受态细胞应保存在-70 $^{\circ}$ C, 不可反复冻融, 否则其转化效率将会降低。
- 2、实验过程中应严格无菌操作, 防止其它 DNA 或杂菌的污染, 避免为以后的筛选、鉴定带来影响。
- 3、转化时, 转化效率与外源 DNA 的浓度在一定范围内成正比, 但当加入的外源 DNA 量过多或体积过大反而会降低转化效率。转化时 DNA 体积要小于感受态细胞体积的十分之一。
- 4、转化率的计算: 转化率=产生菌落的总数/铺板 DNA 总量。
- 5、为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接产物, 以重新转化, 将损失降到最低。

## 相关文献:

- [1] Yimin Li,Jiaoqi Gao,Xuze Pei,et al. Production of l-alanyl-l-glutamine by immobilized *Pichia pastoris* GS115 expressing  $\alpha$ -amino acid ester acyltransferase. *Microbial Cell Factories*. November 2018. (IF 3.831)