

DH5 α -T1 感受态细胞

货号: AC10817

规格: 10 \times 100 μ L

保存: -70 $^{\circ}$ C 保存, 6 个月, 避免反复冻融。不适合在液氮中保存。

产品简介:

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 10⁸ cfu/ 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、博莱霉素、庆大霉素、氯霉素和四环素敏感。

操作方法: (以下操作均按无菌条件的标准进行)

(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. 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。