



DH5α λpir Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC102)

DH5α λpir :	100μl/支
pUC19 (control vector, 0.1ng/μl):	5μl
保存条件(保质期) :	-80°C (6个月)

产品介绍

DH5α λpir 菌株来源于 DH5α, 在 DH5α 大肠杆菌基因组中引入 *LAMPir*, 即为 DH5α λpir, 该菌株可以表达 PIR 蛋白, 使得含有 *R6Kg ori* 复制子的质粒可以在其中正常复制。DH5α λpir 菌株缺失核酸内切酶 (*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; *lacZΔM15* 的存在使 DH5α 可用于蓝、白斑筛选; 但 DH5α λpir 菌株生长速度较慢, 在平板培养或液体摇菌时应延长生长时间。DH5α λpir 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率 $>1 \times 10^8$ cfu/μg DNA。

基因型: F- φ80 *lacZΔM15 Δ(lacZYA-arg F) LAMPir U169 endA1 recA1 hsdR17(r_k⁻, m_k⁺) supE44 λ- thi-1 gyrA96 relA1 phoA*

操作方法

1. 取感受态细胞置于冰浴中 (解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA (质粒或连接产物), 轻轻混匀, 在冰浴中放置 25 分钟。

注意: 所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞体积的 1/10。

2. 将离心管置于 42°C 水浴中放置 60 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2 分钟, 该过程不要摇动离心管。

3. 向每个离心管中加入 700μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37°C 180rpm 摇床振荡培养 45-60 分钟, 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。

4. 根据实验要求, 吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, **37°C 培养 16-18 小时以上**。

注意事项

1. 感受态细胞需要在冰中缓慢融化, 插入冰中 10 分钟内加入目标 DNA, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。
2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作, 避免用移液枪吹吸。
3. 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 感受态细胞应保存在 -70°C, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
5. 为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接反应液, 以重新转化, 将损失降低到最低。