

DH5 α 感受态细胞

(使用说明书 Ver.1.1.2)

产品说明

- ✧ 本感受态细胞转化pUC19质粒的效率可达到 10^8 cfu/ μ l。
- ✧ 高效感受态细胞制备试剂盒是在传统氯化钙感受态细胞制备方法的基础上进行适当改良而成，无需热激，操作便捷，转化效率高。

产品货号：

JSR1701-10 (10次反应) JSR1701-100 (100次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
操作步骤	1
附录	1
◇ 传统转化操作步骤	1
◇ 提示	1

产品组份

菌种	10次	100次	保存
DH5 α	10*100 μ l	100*100 μ l	-80 $^{\circ}$ C

注意事项

- ◇ 建议培养皿提前预热37 $^{\circ}$ C，使用4 $^{\circ}$ C或者室温平板时，效率会降低。
- ◇ 在转化PCR连接产物时，如果得不到理想的转化效果，可以考虑采用传统的转化方法。
- ◇ 长期保存于-80 $^{\circ}$ C，一次转化使用一管，有效期一年。

操作步骤

1. 感受态细胞取出后立即放置冰上，冰上解冻。
2. 添加质粒2-5 μ l。
3. 混合均匀，冰上放置5-10分钟。
4. 准备好的37 $^{\circ}$ C预热培养基平板，涂板于相应的含抗生素的平板上。

附录

传统转化操作步骤：以下操作均按无菌条件的标准进行

1. 转化：取感受态细胞置于冰浴中（解冻1-2分钟），加入质粒DNA或重组连接产物，轻轻混匀，在冰浴中放置20-30分钟。注意：所使用DNA体积不要超过感受态细胞悬液体积的1/10。
2. 热激：将离心管置于42 $^{\circ}$ C水浴中放置90秒，然后快速将管转移到冰浴中，使细胞冷却2-3分钟，该过程不要摇动离心管。
3. 复苏：向每个离心管中加入500 μ l—1ml无菌的SOC或LB培养基（不含抗生素），混匀后置于37 $^{\circ}$ C 180rpm-220rpm，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. 涂板：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。待平板表面干燥后，倒置平板，37 $^{\circ}$ C培养12-16小时。(为得到较多克隆，4000rpm离心1分钟，弃掉部分上清，保留100-150 μ l，轻弹悬浮菌体，取全部菌液涂板，培养过夜。)

提示：

- ◇ 刚刚化冻的细胞，转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下，半小时活性无明显变化，因此，同时转化多支感受态细胞时尽量半小时加完。
- ◇ 感受态细胞应保存在-80 $^{\circ}$ C以下，避免反复化冻，以避免降低感受态细胞的转化效率。
- ◇ 进行转化操作时，应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
- ◇ 避免用移液枪吹吸，整个过程要轻柔，且尽量低温操作。
- ◇ 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。