

DH5 α -m Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL1004)

DH5 α -m Competent Cell	100 μ l /支
pUC19 (control vector, 10pg/ μ l)	10 μ l
保存条件 (保质期):	-80 $^{\circ}$ C (6个月)

● 基因型

F- ϕ 80 *lac* Δ M15 Δ (*lacZYA-arg F*) U169 *endA1 recA1 supE44 λ - thi -1 gyrA96 relA1 phoA mcrA* Δ (*mrr- hsdRMS-mcrBC*)

● 产品说明

DH5 α -m 菌株兼顾 DH5 α 和 DH10B 菌株的优点, 在 DH5 α 基因组中引入 *mcrA*、*mcrBC*、*mrr-*、*hsdRMS* 突变使得从外源摄入的甲基化 DNA 不被降解, 有利于甲基化 DNA 的克隆和扩繁, 特别适合于克隆富含甲基胞嘧啶或甲基腺嘌呤的 DNA, 同时提高了转化效率。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; *lacZ* Δ M15 的存在使 DH5 α -m 可用于蓝、白斑筛选。DH5 α -m 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 > 1 \times 10⁹ cfu/ μ g DNA。

● 操作方法

1. DH5 α -m 感受态细胞从 -80 $^{\circ}$ C 拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀 (避免用枪吸打), 冰中静置 25 分钟。
2. 42 $^{\circ}$ C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰上并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μ l 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB), 混匀后 37 $^{\circ}$ C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体, 留取 100 μ l 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37 $^{\circ}$ C 培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作, 将平板放 37 $^{\circ}$ C 培养至少 15 h。

● 注意事项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化。插入冰中 8 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。混入目的 DNA 时应轻柔操作。
2. 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。
3. 若要获得大量, 高纯度质粒, 建议在 TB 培养基 (唯地 CAT#: CM1018L) 中摇菌培养 (以标准质粒 PUC19 为例: 在 TB 营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为 LB 的 3-4 倍, SOC 的 2 倍)