

DH5α λpir 化学转化感受态使用说明

◇ 产品简介

本品为大肠杆菌 DH5α λpir (基因型: F- $\phi 80$ lac Z Δ M15 Δ (lacZYA-arg F) LAMpir U169 *endA1 recA1 hsdR17*(r_k⁻,m_k⁺) *supE44* λ -*thi-1 gyrA96 relA1 phoA*) 制作的高效感受态, 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; lacZ Δ M15 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 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 > 1 × 10⁹ cfu/μg DNA。

◇ 产品规格

品名	货号	规格
DH5α λpir 化学转化感受态	EC008H-S	10×100 μL
	EC008H-M	50×100 μL

保存条件: -80℃ (12 个月)

◇ 转化方法

1. 从 -80℃ 冰箱中取出感受态细胞, 放入冰中 5 min, 加入目的质粒或连接产物, 轻弹使混合均匀, 并在冰中孵育 30min;
2. 放 42℃ 水浴锅中热激 90 s, 立即插入冰中静置 2-3 min;
3. 添加 900 μL LB 液体培养基, 37℃ 摇床 220 rpm 培养 60 min;
4. 离心 (质粒转化无需离心, 吸取 100μL 菌液涂布即可), 倒掉上清, 余下菌液均匀涂布抗性平板, 37℃ 培养箱放置过夜。

◇ 注意事项

1. 感受态细胞解冻后应立即使用, 不可在冰中放置过长时间。
2. 不能用移液器抽吸感受态细胞, 用手指轻弹混匀即可。
3. 质粒使用量 < 50 ng 即可获得很好的转化。