

DH5 α λ pir 感受态细胞

DH5 α λ pir Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G2018

保存条件: -80 $^{\circ}$ C

产品规格: 10 \times 100 μ l 100 \times 100 μ l

产品介绍

基 因 型

F- ϕ 80 lac Z Δ M15 Δ (lacZYA-arg F) LAMpir U169 endA1 recA1
hsdR17(rk- ,mk+) supE44 λ - thi -1 gyrA96 relA1 phoA

简 要 说 明

MLBioDH5 α λ pir 菌株来源于 DH5 α ，在 DH5 α 大肠杆菌基因组中引入

LAMpir, 即为 DH5 α λ pir, 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。DH5 α λ pir 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 DH5 α 可用于蓝、白斑筛选; 但 DH5 α λ pir 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。MLBio 生物开发的 DH5 α λ pir 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率 $>1 \times 10^9$ cfu/ μ g DNA。

操作说明

1. MLBio DH5 α λ pir 感受态细胞从 -80°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 管底混匀, 冰中静置 25 分钟。
2. 42°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 (LB), 混匀后 37°C , 200 rpm 复苏 70 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 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37°C 培养箱至少 18 小时。

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。
2. DH5 α λ pir 菌株生长缓慢，在平板上培养或液体摇菌时应延长菌体生长时间（37°C，18 小时以上）。
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。