

DH5α λpir Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL1002)

DH5α λpir Competent Cell	100μl /支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件 (保质期):	-80°C (6个月)

● 基因型

F- φ80 *lacZ*ΔM15 Δ(*lacZYA-arg F*) *LAMP*pir U169 *endA1 recA1 hsdR17*(r_K,m_K⁺) *supE44*λ-*thi -1 gyrA96 relA1 phoA*

● 产品说明

DH5α λpir 菌株来源于 DH5α, 在 DH5α 大肠杆菌基因组中引入 *LAMP*pir, 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*ΔM15 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。唯地生物开发的 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。

● 操作方法

1. DH5α λpir 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 μl 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 μl 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. DH5α λpir 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。
4. 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)