

DH5 α -T1R Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL1005)

DH5 α -T1R Competent Cell	100 μ l /支
pUC19 (control vector, 10pg/ μ l)	10 μ l
保存条件:	-80 $^{\circ}$ C

● 基因型

F- ϕ 80 lacZ Δ M15 Δ (lacZYA-argF)U169 recA1 endA1 hsdR17(rk-, mk+) phoA supE44 λ -thi-1 gyrA96 relA1 tonA

● 产品说明

DH5 α -T1R 菌株，来源于 DH5 α 菌株。在 DH5 α 大肠杆菌基因组中引入 tonA，赋予其抗噬菌体 T1,T5 的能力，即为 DH5 α -T1R。DH5 α -T1R 菌株广泛应用于各种 DNA 的克隆和文库构建试验，具有比普通 DH5 α 更好的安全性。DH5 α -T1R 菌株缺失核酸内切酶 (endA1) 和重组酶(recA1)，提高了质粒 DNA 的产量和质量；lacZ Δ M15 的存在使 DH5 α -T1R 可用于蓝、白斑筛选；DH5 α -T1R 细胞数的倍增时间比普通 DH5 α 长，37 度、200rpm 生长时约需 40min(+/-5)，DH5 α -T1R 菌落生长或液体摇菌比普通 DH5 α 需要更长时间。唯地生物的 DH5 α -T1R 感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒 (2686bp, AmpR) 检测转化效率 $>5 \times 10^8$ cfu/ μ g DNA。

● 操作方法

1. DH5 α -T1R 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，并用手拨打 EP 管底混匀，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 (LB)，混匀后 37 $^{\circ}$ C，200 rpm 复苏 70 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体，留取 50 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 $^{\circ}$ C 培养箱至少 17 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. 混入目的 DNA 时应轻柔操作，转化高浓度质粒或连接产物可相应减少用于涂板的菌量。
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)