

### DH5 $\alpha$ -Rec1 Chemically Competent Cell 产品说明书

#### ● 产品规格 (CAT#: DL1001R)

DH5 $\alpha$ -Rec1 Competent Cell	100 $\mu$ l /支
pUC19 (control vector, 10pg/ $\mu$ l)	10 $\mu$ l
保存条件 (保质期) :	-80 $^{\circ}$ C (6 个月)

#### ● 基因型

F-  $\phi$ 80 *lac* Z $\Delta$ M15  $\Delta$ (*lacZYA*-arg F) U169 *endA1 recA1 hsdR17(rk-,mk+)* *supE44 $\lambda$ - thi -1 gyrA96*  
*relA1::RecBCO phoA*

#### ● 产品说明

DH5  $\alpha$ -Rec1 是 DH5  $\alpha$  的衍生菌株。将一套高效重组酶系统通过基因编辑插入 DH5  $\alpha$  的核基因中,使其在大肠杆菌体内维持高重组酶活力。DH5  $\alpha$ -Rec1 可高效连接大片段 DNA (10kb DNA 片段可以一次连接成功,最高可成功连接 42kb DNA 片段);可高效连接多片段 DNA (5-8 个 DNA 片段可以一次连接成功,最高可一次性连接 12 个 DNA 片段)。DH5  $\alpha$ -Rec1 缺失核酸内切酶 (*endA*),提高了质粒 DNA 的产量和质量;菌株原始重组酶 *recA1* 突变型保证 DNA 的稳定性;*lacZ*  $\Delta$  M15 的存在使 DH5  $\alpha$ -Rec1 可用于蓝、白斑筛选;DH5  $\alpha$ -Rec1 感受态细胞经特殊工艺制作,pUC19 质粒 (2686bp, Amp<sup>R</sup>) 检测转化效率 >1 $\times$ 10<sup>9</sup> cfu/ $\mu$ g DNA。

#### ● 经典热激转化操作方法

1. DH5  $\alpha$ -Rec1 感受态细胞从 -80 $^{\circ}$ C 拿出,迅速插入冰中,3-5 分钟后待菌块融化(融化一半即可使用),加入目的 DNA (重组产物或连接产物) 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 1000  $\mu$ 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 60-90 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体,留取 50-100  $\mu$ 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。
6. DNA 的重组和连接可用其他公司的重组酶、连接酶,也可用本公司的重组试剂盒或连接试剂盒。

#### ● Gibson Assembly 重组试剂盒操作方法

1. 使用 Gibson 重组试剂盒 (唯地货号: VC1001): 加入线性化载体 100 ng, 片段 200-800 ng, 5  $\mu$ l 重组酶 Mix, 混匀后静置于 50 度水浴 15-60min(片段越大,时间越长),从 50 度水浴拿出,插入冰中静置 30S。
2. 按热激转化操作方法转入 DH5  $\alpha$ -Rec1 感受态,涂相应抗生素平板,将平板放 37 $^{\circ}$ C 培养 15-20h。

#### ● T4 ligase 连接试剂盒操作方法

1. 使用 T4 ligase 连接试剂盒 (唯地货号: VC2001): 加入线性化载体 100 ng, 片段 200-800 ng, 5  $\mu$ l T4 ligase Mix, 混匀后静置与 25 度水浴 60min, 75 $^{\circ}$ C for 20min, 50 $^{\circ}$ C for 30 min, 插入冰中静置 30S 以上。

2. 按热激转化操作方法转入 DH5  $\alpha$ -Rec1 感受态，涂相应抗生素平板，将平板放 37°C 培养 15 -20h。

### ● 核心优势

1. 永久整合型重组酶系统，重组酶基因稳定整合于大肠杆菌基因组，持续表达高活力重组酶，无游离质粒，方便进行质粒构建。
2. 重组效率提升 10-20 倍：特别适合长片段（5-42kb）基因操作；特别适合多片段重组（最多 12 个片段）。
3. T4 连接酶连接效率提升 10-20 倍：特别适合长片段（5-42kb）基因操作。
4. 质粒稳定性比普通大肠杆菌提高 2 倍：质粒骨架稳定，错误重组率低。

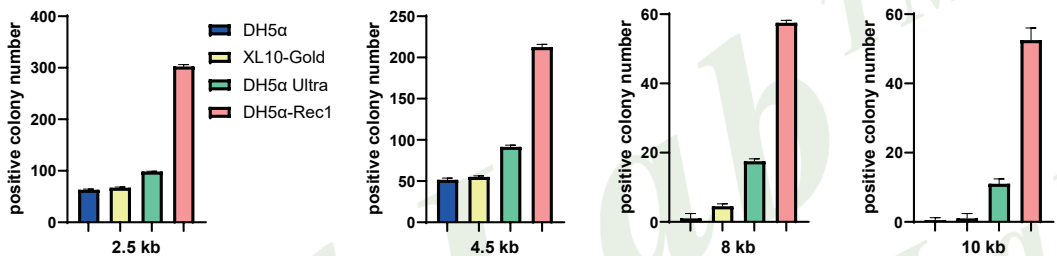


图 1. DH5  $\alpha$ -Rec1 感受态与其他克隆感受态构建载体阳性菌落数对比（12kb plasmid+2.5kb/4.5kb/8kb/10kb 片段）。

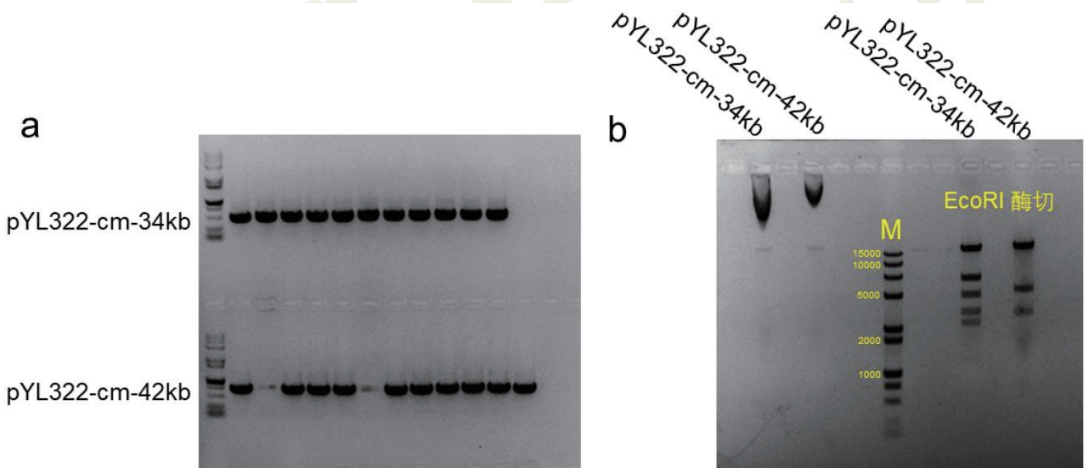


图 2. 质粒连接大片段 DNA 转化 DH5  $\alpha$ -Rec1 感受态构建载体的试验结果：图中分别连接 34kb 和 42kb 基因簇。

### ● 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。转化高效率的连接产物可减少最终用于涂板的菌量。
2. 若要获得大量，高纯度质粒，可使用通用质粒诱导剂 II/III（货号 CAT#: DL1206/DL1207）。
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）