

DH5 α -Rec1 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL1001R)

DH5 α -Rec1 Competent Cell	100 μ l /支
pUC19 (control vector, 10pg/ μ l)	10 μ l
保存条件 (保质期):	-80°C (6 个月)

● 基因型

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

● 产品说明

DH5 α -Rec1 是 DH5 α 的衍生菌株。将一套高效重组酶系统通过基因编辑插入 DH5 α 的核基因中, 使其在大肠杆菌体内维持高重组酶活力。DH5 α -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 α -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 Δ M15 的存在使 DH5 α -Rec1 可用于蓝、白斑筛选; DH5 α -Rec1 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 $\times$ 10⁹ cfu/ μ g DNA。

● 经典热激转化操作方法

1. DH5 α -Rec1 感受态细胞从 -80°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°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 μ l 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB), 混匀后 37°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 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 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作, 将平板放 37°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: A2011): 加入线性化载体 100 ng, 片段 200-800 ng, 5 μ 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 α -Rec1 感受态, 涂相应抗生素平板, 将平板放 37°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: A1011): 加入线性化载体 100 ng, 片段 200-800 ng, 5 μ l T4 ligase Mix, 混匀后静置与 25 度水浴 60min, 75°C for 20min, 50°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 α -Rec1 感受态，涂相应抗生素平板，将平板放 37℃ 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。

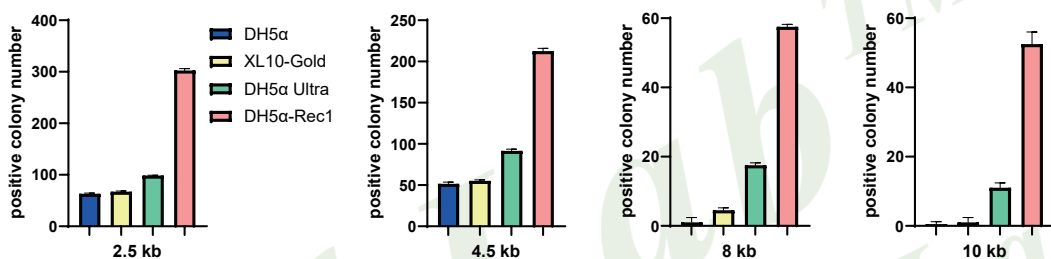


图 1. DH5 α-Rec1 感受态与其他克隆感受态构建载体阳性菌落数对比（12kb plasmid+2.5kb/4.5kb/8kb/10kb 片段）。

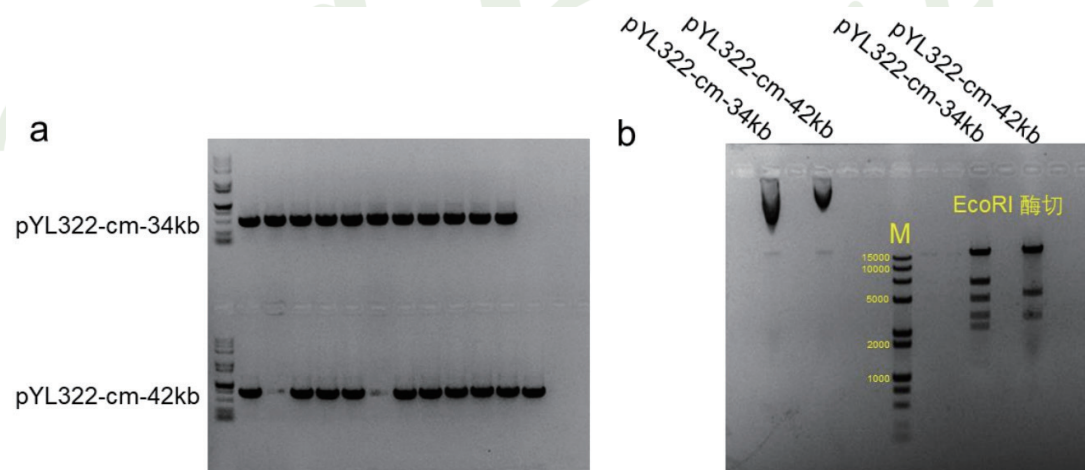


图 2. 质粒连接大片 DNA 转化 DH5 α-Rec1 感受态构建载体的试验结果：图中分别连接 34kb 和 42kb 基因簇。

● 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）