

Code No. 9057

研究用

TaKaRa

E. coli DH5 α
Competent Cells

说明书

目 录

内 容	页 码
● 制品内容	1
● 保 存	1
● 制品说明	1
● 使用方法	1
● 质量控制	2
● Genotype	2
● 细胞浓度	2
● 参考文献	2
● 关联产品	2

● 制品内容

<i>E. coli</i> DH5 α Competent Cells	100 μ l \times 10
pUC19 plasmid (0.1 ng/ μ l)	10 μ l
SOC Medium*	1 ml \times 10

* SOC Medium:	2%	Tryptone
	0.5%	Yeast extract
	10 mM	NaCl
	2.5 mM	KCl
	10 mM	MgSO ₄
	10 mM	MgCl ₂
	20 mM	Glucose

● 保 存

-80°C

注意：-80°C或更低温度下保存。如果保存温度不能恒定，转化效率将会降低。请使用附带的 pUC19 对照质粒来确认保存细胞的转化效率。不能液氮保存。

● 制品说明

Takara 在 Hanahan's method 基础上进行了改良，制备出 *E. coli* DH5 α Competent Cells。

E. coli DH5 α Competent Cells 在使用 pUC 系列质粒载体进行 DNA 转化时，利用 β -半乳糖苷酶活性 (α -互补性)，通过蓝白斑方法可以很容易地鉴别重组体菌株。由于菌株无 *lac*^I，故不需要 IPTG。因此，当制作基因文库或进行亚克隆时，可以使用 X-Gal 筛选重组 DNA 或重组质粒。

X-Gal : 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Galactoside

● 使用方法

质粒载体转化

1. *E. coli* DH5 α Competent Cells 使用前在冰上融化。
2. 轻微混匀，取 100 μ l 装入 14 ml 圆底 tube 中 (BD Code: 352059 或 352057)。
注意：不能剧烈振荡混合细胞。
3. 加入 DNA 样品 (建议 \leq 10 ng)。
4. 冰中放置 30 分钟。
5. 42°C 放置 45 秒。
6. 冰中放置 1-2 分钟。
7. 添加 SOC 培养基 (预先在 37°C 保温) 至终体积 1 ml。
8. 37°C 振荡培养 1 小时 (160-225 rpm)。
9. 取适量涂布于选择培养基*。
10. 37°C 过夜培养。

*: 直径 9 cm 的平板的涂布量不超过 100 μ l。如有需要，使用步骤 7 中的培养基进行稀释。

[注意事项]

1. 将感受态细胞从 -80°C 冷冻取出后请立即置于干冰/乙醇中。使用前保存于干冰/乙醇中。
2. 可使用 1.5 ml microcentrifuge tubes 代替 14 ml 圆底 tubes (BD Code 352059 或 352057 等)，但效率可能会降低。

3. 当使用 100 μ l 感受态细胞时，加入的高纯度 DNA 样品不要超过 10 ng。否则转化效率会降低。
4. 当改变感受态细胞数量或 tube 类型时，适当调整反应条件。例如，当使用 1.5 ml microcentrifuge tubes 时，42°C 放置 60 秒而不是 45 秒。
5. L-broth 或 ϕ b-broth 可替代 SOC 培养基。此时，转化效率可能会降低。

- L-broth:

Ingredient	per liter water
Tryptone	10 g
Yeast extract	5 g
NaCl	5 g

用 1 N NaOH 调整 pH 到 7.5 并高压灭菌。

- ϕ b-broth:

Ingredient	per liter water
Tryptone	20 g
Yeast extract	5 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	5 g

用 1 N KOH 调整 pH 到 7.5 并高压灭菌。

6. 当加入 X-Gal 时，按照以下操作进行：
 - 将 20 mg/ml X-Gal (溶解于二甲基甲酰胺) 按 200–300 μ l/100 ml 的比例加入到 agar 培养基中。
7. DH5 α 可用于 M13mp 载体的复制。但由于其不携带 F 因子，因而不能形成菌斑。
8. 不建议将解冻的感受态细胞再次冷冻保存。但是，如果再次冻结不可避免，将细胞置于干冰/乙醇中迅速冷冻，置于 -80°C 保存。但是，转化效率可能会降低至少一个数量级。

● 质量控制

1 转化效率

转入 1 ng 的 pUC19，涂布于含有 Amp^r 的选择培养基进行筛选。

转化效率：>1 × 10⁸ transformants/ μ g pUC19

2. F['] 质粒稳定性

当使用 pUC19 plasmid 进行转化时，含有 100 μ g/ml Ampicillin 和 60 μ g/ml X-Gal 的 L-agar plate 出现蓝色菌落。

● Genotype

E. coli DH5 α : F⁻, ϕ 80d/lacZ Δ M15, Δ (*lacZYA-argF*)U169, *deoR*, *recA1*, *endA1*, *hsdR17* (*rK⁻*, *mK⁺*), *phoA*, *supE44*, λ^{-} , *thi-1*, *gyrA96*, *relA1*

● 细胞浓度

1–2 × 10⁹ bacteria/ml

● 参考文献

Hanahan D. *J Mol Biol.* (1983) **166**: 557

● 关联产品

E. coli DH5 α Electro-Cells (Code No. 9027)

pUC19 DNA (Code No. 3219)

X-Gal (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Galactoside) (Code No. 9031)

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考 Takara Bio Inc.网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

技术咨询热线：

0411-87641685, 87641686

4006518761, 4006518769

TAKARA BIO INC.

URL: <https://www.takarabiomed.com.cn>

v202003Da