



SinoMol Fast DH5 α Chemically Competent Cell

产品货号：KLC103

产品规格：100 μ l/支

基因型：

F- ϕ 80 lac Z Δ M15 Δ (lacZYA-arg F) U169 deoR recA1 endA1 hsdR17(rK⁻,mkt⁻) phoA supE44 λ - thi -1 gyrA96 relA1

产品介绍：

SinoMol Fast DH5 α 菌株为大肠杆菌 DH5a 突变株，本公司采用独特的感受态制备缓冲液配方及制备工艺，大大提高了感受态的转化效率，特别适用于转化大于 15k 的质粒。使用本产品时即可选择标准转化流程，亦可选择快速转化流程，对于氨苄抗性的质粒，最快 10 分钟内即可完成转化过程，对于卡那抗性的质粒，最快 30 分钟即可完成转化过程。使用 pUC19 质粒检测，其转化效率 $>1 \times 10^{10}$ cfu/ μ g DNA。

操作方法：

一、标准转化流程

1. 取 100 μ l 感受态细胞，迅速插入冰中，待菌块融化，加入目的 DNA（质粒或连接产物）并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打)，冰中静置 30 分钟。
2. 42 $^{\circ}$ C 水浴热激 45~60 秒，迅速放回冰中并静置 2 分钟，晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 500 μ l 不含抗生素的无菌培养基 (SOC 或 LB)，37 $^{\circ}$ C，200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 根据实验需要，吸取一定体积复苏后的菌液涂布到含相应抗生素的 SOC 或 LB 培养基上。
5. 将平板置于 37 $^{\circ}$ C 至液体被吸收，倒置平板，37 $^{\circ}$ C 培养箱过夜培养。

二、快速转化流程

1. 氨苄 (Amp) 抗性质粒

- (1) 取 100 μ l 感受态细胞，迅速插入冰中，待菌块融化，加入目的 DNA（质粒或连接产物）并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打)。
- (2) 42 $^{\circ}$ C 水浴热激 45~60 秒，迅速放回冰中并静置 2 分钟，晃动会降低转化效率。
- (3) 向离心管中加入 500 μ l 不含抗生素的无菌培养基 (SOC 或 LB)，混匀后，吸取一定体积的菌液涂布到含相应抗生素的 SOC 或 LB 培养基上，或者不加培养液直接涂板。
- (4) 将平板置于 37 $^{\circ}$ C 至液体被吸收，倒置平板，37 $^{\circ}$ C 培养箱过夜培养。

2. 卡那 (Kana) 抗性质粒

- (1) 取 100 μ l 感受态细胞，迅速插入冰中，待菌块融化，加入目的 DNA（质粒或连接产物）并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打)，冰中静置 5 分钟。
- (2) 42 $^{\circ}$ C 水浴热激 45~60 秒，迅速放回冰中并静置 2 分钟，晃动会降低转化效率。
- (3) 向离心管中加入 500 μ l 不含抗生素且 37 $^{\circ}$ 预热的无菌培养基 (SOC 或 LB)，37 $^{\circ}$ C，200 rpm 复苏 20 分钟。
- (4) 根据实验需要，吸取一定体积复苏后的菌液涂布到含相应抗生素的 SOC 或 LB 培养基上。
- (5) 将平板置于 37 $^{\circ}$ C 至液体被吸收，倒置平板，37 $^{\circ}$ C 培养箱过夜培养。



注意事项：

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化，融化后立即加入目标 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. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作。
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. 目的质粒或连接产物不能超过感受态总体积的 1/10。
5. 本品对四环素不敏感，可转化除四环素抗性以外的大部分质粒。
6. 珍贵核酸样品的转化请勿必使用常规转化流程。

保存条件：

-80°C保存 6 个月。