

Code No. 9027

研究用

TaKaRa

E. coli DH5 α Electro-Cells

说明书

目 录

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

● 制品说明

E. coli DH5 α Electro-Cells 是 Takara Bio 特别制备的适用于电穿孔法的制品。用高电压脉冲电流瞬间击穿细胞的细胞质膜，从而使外源 DNA 转入宿主细胞的转化方法称为电穿孔法。通过此种方法制备的感受态细胞转化效率高、产量大，尤其适合在短时间内将少量样品转入大肠杆菌内。

E. coli DH5 α 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)，应用蓝白斑方法可以很容易鉴别重组体菌株。由于菌株无 *lacI*^q，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

● 制品内容

<i>E. coli</i> DH5 α Electro-Cells	50 μ l \times 10
pUC19 plasmid (10 pg/ 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 $^{\circ}$ C

注意：-80 $^{\circ}$ C或更低温度下保存。如果保存温度不能恒定，转化降低将会降低。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。

● 使用方法

1. *E. coli* DH5 α Electro-Cells (50 μ l) 使用前在冰上融化。
2. 在融化的细胞中加入 1~2 μ l DNA 溶液*1。
3. 将 Electro-Cell 及 DNA 混合液注入到冰中预冷的 0.1 cm 电转杯内 (Cuvette)。
4. 电压冲击*2后，迅速置于冰中冷却，加入 1 ml SOC 培养基 (冰中预冷)。
5. 37 $^{\circ}$ C振荡培养 1 小时 (160~250 rpm)。
6. 取适量涂布选择培养基。直径为 9 cm 的平板涂布量不超过 100 μ l。
7. 37 $^{\circ}$ C过夜培养。

*1: 当 DNA 溶液中有盐存在时，用 TE buffer 或灭菌水稀释，也可用乙醇沉淀脱盐 (建议<10 ng)。使用 TaKaRa DNA Ligation Kits 制备的 DNA 样品时，需要乙醇沉淀纯化。

*2: Takara Bio 使用 BIO-RAD MicroPulser，电压为 1.5 kV。当使用 BIO-RAD Gene Pulser 时，标准设置为 200 Ω ，25 μ F，1.5 kV。

[注意事项]

1. 将 Electro-Cells 从-80 $^{\circ}$ C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. 当使用 50 μ l Electro-Cells 时，添加不多于 10 ng 的高纯度样品 DNA。否则会降低转化效率。

3. 导入分子量较大的 DNA (>7kb) 时, 转化效率稍低。
4. 当改变实验规模时, 适当改变反应条件。
5. L-broth 或 ϕ b-broth 可代替 SOC 培养基。此时, 转化效率会降低。

· 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 pH7.5 左右并高压灭菌。

6. 稀释时, 使用“使用方法 4”中加入培养基。
7. 当使用 X-Gal 时:
 - 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 medium 中。
8. DH5 α 可作为 M13mp 载体的复制。但由于不携带 F 因子, 因而不能形成菌斑。
9. 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。

● 质量标准

1. 转化效率

转入 10 pg 的 pUC19, 涂于 Amp⁺ 选择培养基进行筛选。

转化效率 : > 1 × 10⁹ transformants/ μ g pUC19

2. β -半乳糖苷酶的 α -互补性

转化 pUC19 DNA 时, 含有 100 μ g/ml ampicilin 和 60 μ g/ml X-Gal 的 L-琼脂平板上出现蓝色菌落。

● 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 × 10¹⁰ bacteria/ml

● 参考文献

- 1) Dower W J, Miller J F, and Ragsdale C W. *Nucl Acids Res.* (1988)**16**: 6127.
- 2) Bottger E C. *Biotechniques.* (1988) **6**: 878.

● 关联产品

E. coli DH5 α Competent Cells (Code No. 9057)

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>