



NEB5 α F' I^q 感受态细胞

产品信息:

组成	BC130-02
NEB5 α F' I ^q Competent cells	20 \times 100 μ l
pUC19 质粒	5 μ l

储存条件: -70°C保存, 避免反复冻融。

产品介绍:

NEB5 α F' I^q 菌株来源于 DH5 α , 具有抗 T1 噬菌体感染特点。严谨的表达调控 (lacI^q) 非常适用于克隆毒性基因。该菌株含 F' 因子, 转化效率极高, 可进行蓝/白斑筛选。缺失非特异性核酸内切酶 I (endA1) 活性, 可用于制备高质量质粒。recA1 可减少克隆 DNA 的重组反应, 可用于 M13 噬菌体的繁殖。NEB5 α F' I^q 大肠杆菌感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率大于 10⁸ cfu/ μ g。

基因型:

F'proA+B+ lacI^q Δ (lacZ)M15 zzf::Tn10 (Tet^R) / fhuA2 Δ (argF-lacZ)U169 phoA glnV44 f80 Δ (lacZ)M15 gyrA96 recA1 endA1 thi-1 hsdR17

菌株抗性: 对氨苄青霉素、卡那霉素、壮观霉素、链霉素、氯霉素敏感, 对四环素有抗性。

转化步骤:

常规转化方法

1. 将感受态细胞置于冰水浴中化冻。待细胞刚化冻后, 加入质粒 DNA 或 5-10 μ l 连接产物到细胞中, 用手指拨打管底, 轻轻混匀。
2. 冰水浴中放置 30 分钟, 不要晃动。
3. 42°C 热击 60 秒钟, 不要晃动。
4. 冰水浴中放置 2 分钟, 不要晃动。
5. 加入 500 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基。
6. 置于 37°C 摇床中, 150-200 rpm 震荡复苏培养 60 分钟。
7. 取 50-100 μ l 菌液涂布在含相应抗性抗生素的 LB 平板上。待液体吸干后, 倒置平板, 37°C 培养 12-16 小时。

平板划线分离法

复苏培养结束后 (常规转化步骤 6), 12,000 rpm 离心 30 秒钟, 弃掉上清, 留 100 μ l 左右的液体, 用 200 μ l 吸头轻轻吹散菌块, 取 10 μ l 重悬的菌液分多点滴在平板上, 倾斜吸头, 用吸头头部的侧面将滴在平板上的液体来回划线。这个方法可以获得更多更大的单克隆菌落。

氨苄青霉素 (Amp) 抗性质粒快速转化方法

完成质粒常规转化步骤 4 后, 取适量菌液涂布, 或多点滴在平板上, 倾斜吸头, 用吸头头部的侧面将滴在平板上的液体来回划线, 倒置平板, 37°C 培养 12-16 小时。

20240620