



DH5αλpir 大肠杆菌化学感受态细胞

产品信息:

组成	BC132-01
DH5αλpir 大肠杆菌化学感受态细胞	10×100μl
pUC19 (0.1ng/μl)	10μl

储存条件: -70℃保存，避免反复冻融。

产品说明

DH5αλpir 菌株源于大肠杆菌 DH5α，其基因组中整合了λpir 元件，能够特异性表达 PIR 蛋白，从而支持依赖 R6Kγ复制起点的质粒（如 R6K-Box）进行复制。该菌株 *endA* 与 *recA* 基因功能双重缺失：*endA* 突变有助于提高质粒的提取产量与纯度；*recA* 突变则能有效避免外源 DNA 片段的同源重组，保证其在宿主内的稳定性。此外，它同样适用于蓝白斑筛选。需要注意的是，该菌株生长速度相对较慢，培养时需适当延长时间。其感受态细胞经 pUC19 质粒检测，转化效率通常可达 1×10^8 cfu/μg 以上。

基因型:

*F*φ80 *lac* *ZAM15Δ(lacZYAarg F)* *LAMpirU169endA1 recA1 hsdR17(r_K⁺, m_K⁺)supE44λ- thi1 gyrA96 relA1 phoA*

菌株抗性特点: 该菌株对氨苄青霉素、卡那霉素、壮观霉素、四环素、链霉素和氯霉素等多种抗生素敏感。

质粒转化步骤

1. 取感受态细胞置于冰水浴中解冻。待其刚刚融化时，加入目的质粒 DNA 或 5-10 μl 连接产物，用手指轻弹管底，混匀。
2. 将混合物继续在冰水浴中静置 30 分钟，期间请勿晃动。
3. 迅速转移至 42℃水浴，热激 60 秒，过程中勿移动离心管。
4. 立即放回冰水浴，静置 2 分钟，勿晃动。氨苄青霉素抗性的质粒，步骤 4 完成后，可直接涂布或划线于含氨苄青霉素的固体平板上。其他抗性的质粒仍需要加培养基复苏培养，待质粒上的抗性基因表达产物表达（如质粒上的 Kan 基因表达卡那霉素磷酸转移酶）后才能涂布。
5. 加入 500-1000 μl 无菌 SOC 或 LB 培养基。
6. 置于 37℃摇床中，以 150-200 rpm 振荡培养 60 分钟，进行复苏。
7. 取 50-100 μl 菌液，涂布于含相应抗生素的 LB 平板上。待菌液被平板吸收后，倒置平板，于 37℃培养 12-16 小时。

附：平板划线分离法（可选）

1. 复苏培养结束后，12,000 rpm 离心 30 秒，弃去大部分上清，保留约 100 μl。
 2. 使用 200 μl 吸头轻柔吹打，重悬菌体。
 3. 取 10-50 μl 菌液，在抗性平板的不同位置点若干液滴。
 4. 倾斜吸头，以其侧面将液滴在平板表面来回交叉划线将液滴划开。
 5. 待平板稍干后，倒置平板并于 37℃培养 12-16 小时。
- 该方法有助于获得分散的、更大的单克隆菌落。