

NcmDH5a Competent Cell

DH5a 感受态细胞

货号: Cat.No: MD101-1 Size: 100ul X 20 支

产品介绍

NcmDH5 α Competent Cell 是新赛美生物研发的用特殊化学方制备的 DH5 α 感受态细胞, 相比于常规方法制备的感受态细胞, 其转化不需要冰浴、热激和孵育等步骤, 最快能在 30 秒内完成转化步骤。转化步骤多样性, 可以实现 30 秒, 5 分钟及传统步骤的转化, 效率可达 10^8 - 10^9 菌落数/ μ g 质粒 (pUC19), 是实现 DNA 克隆, 文库构建等实验的理想产品。

产品特点

- 转化快: 最快 30 秒快速转化, 不需冰浴、热激和孵育步骤
- 效率高: 可达到 10^8 - 10^9 cfu/ μ g pUC19 DNA
- 稳定性好: -70 度冰箱可保存半年时间

NcmDH5a 基因型

F- ϕ 80lacZ Δ M15 Δ (lacZYA-argF)U169deoRrecA1endA1hsdR17(rk-,mk+)phoA_{sup}E44 λ -thi-1gyrA96r eIA1

操作步骤

(1) 30 秒快速转化

1. 取 100ul 冰浴上融化的 NcmDH5 α 感受态细胞, 加入目的 DNA (质粒或者连接产物), 轻轻混匀。
2. 向每个离心管中加入 200ul 无菌的 SOC 或者 LB 培养基 (不含抗生素), 轻柔地混匀。
3. 吸取已转化的感受态细胞加到含氨苄抗生素的 LB 琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。将平板置于 37 $^{\circ}$ C 至液体被稀释, 平板倒置, 过夜培养。

注意: 30 秒快速转化的产物是携带氨苄抗性的质粒; 其他抗性的质粒, 开始步骤一致, 但加入 SOC 或 LB 培养基后, 需在 37 $^{\circ}$ C, 200 rpm 的摇床上至少孵育 30 分钟, 然后再涂板。

(2) 5 分钟转化

1. 取 100ul 冰浴上融化的 NcmDH5 α 感受态细胞, 加入目的 DNA (质粒或者连接产物), 轻轻混匀, 在冰浴中静置 2 分钟。
2. 42 $^{\circ}$ C 水浴中热激 30 秒, 然后快速将离心管转移至冰浴中 2 分钟, 该过程不要振荡离心管。

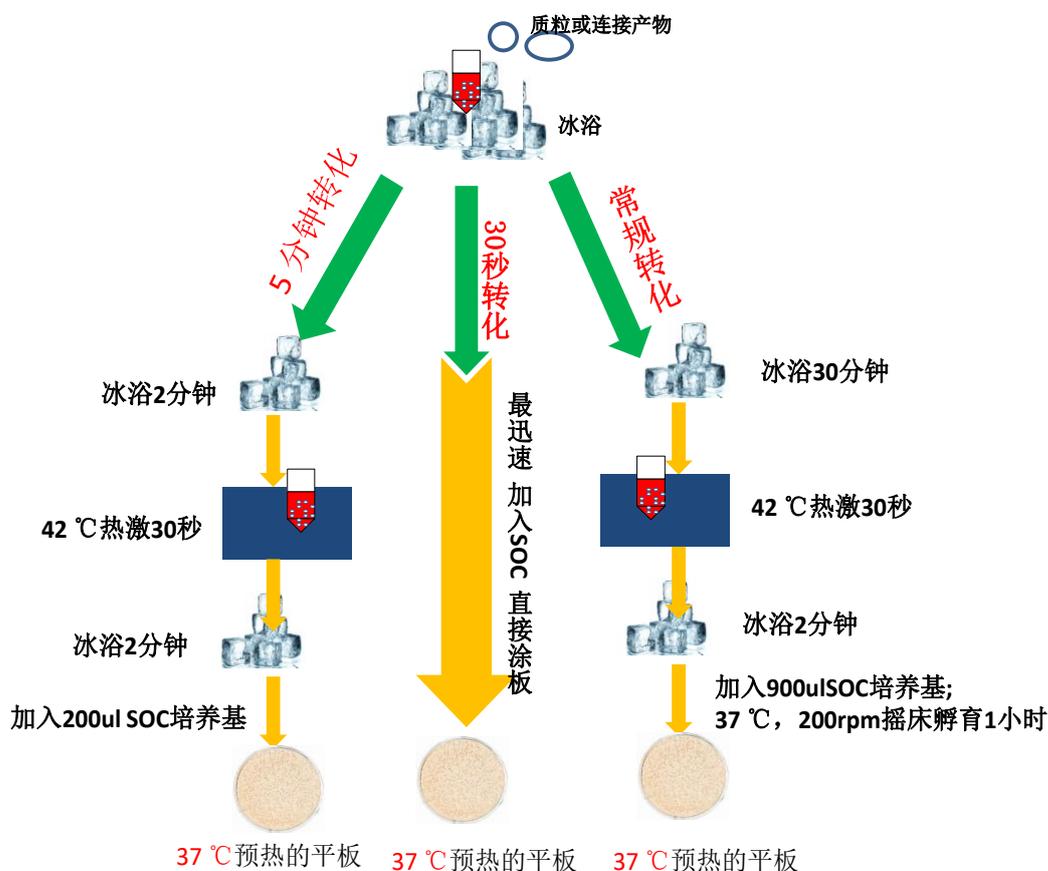
3. 向每个离心管中加入 200ul 无菌的 SOC 或者 LB 培养基（不含抗生素），轻柔地混匀。
4. 吸取已转化的感受态细胞加到含氨苄抗生素的 LB 琼脂培养基上，将细胞均匀涂开。将平板置于 37℃ 至液体被稀释，平板倒置，过夜培养。

注意：5 分钟快速转化的产物是携带氨苄抗性的质粒；其他抗性的质粒，开始步骤一致，但加入 SOC 或 LB 培养基后，需在 37℃，200 rpm 的摇床上至少孵育 30 分钟，然后再涂板。

(3) 传统转化步骤

1. 取 100ul 冰浴上融化的 NcmDH5 α 感受态细胞，加入目的 DNA（质粒或者连接产物），轻轻混匀，在冰浴中静置 30 分钟。
2. 42℃ 水浴中热激 30 秒，然后快速将离心管转移至冰浴中 2 分钟，该过程不要振荡离心管。
3. 向每个离心管中加入 900ul 无菌的 SOC 或者 LB 培养基（不含抗生素），轻柔地混匀后置于 37℃，200rpm 摇床上孵育 1 小时，使细菌复苏。
4. 根据实验要求，吸取不同体积或者离心浓缩后的已转化的感受态细胞加入含相应抗生素的 LB 琼脂培养基上，将细胞均匀涂开，将平板置于 37℃ 至液体被稀释，平板倒置，过夜培养。

转化示意图：**转化迅速，最快 30 秒即可完成转化**



注：30s 或 5 分钟转化的产物应是携带氨苄抗性质粒；其他抗性，步骤相似，但须 37℃，200rpm 摇床至少孵育 30 分钟

保存条件

-70℃保存，干冰运输，至少 1 年有效；

注意事项

1. 刚化冻的感受态细胞效率最高，避免反复冻融；
2. 30 秒或 5 分钟快速转化的产物是携带氨苄抗性的；其他抗性要加入 SOB 或者 LB 培养基，在 37℃，200rpm 摇床上至少孵育 30 分钟；
3. 转化整个过程要轻柔，避免移液器吹吸。