|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **天净沙系列** | **CAT#:2-0011****低温运输，-80℃保存** | ***e13946acdbc5c1a1176b84696beed66*** |
| **大肠杆菌DH5α菌种** ***E.coli* DH5α Strain** |
| **使用手册V1.0** |
| **江苏天净沙基因诊断技术有限公司****网址：**[**www.bingene.com**](http://www.bingene.com)**；电话：400-6005850；电邮：order@bingene.com** |
| **产品及特点** |  本菌种是美国科学家D. Hanahan在1983年首次报道的K-12系大肠杆菌菌株，它是以DH1为基础构建的，是分子生物学中最常用的用于克隆的大肠杆菌菌株，其主要特点如下：1. 转化效率比DH1更高，适用于分子克隆。
2. 脱氧核糖组成型合成，适合扩增制备高拷贝和大型质粒。
3. 携带-半乳糖苷酶片段，如果外源基因携带此酶的片段，则可以进行蓝白斑筛选重组子。
4. 内源核酸酶EndA1缺失，提取的质粒DNA残留DNase少，质量高。
5. 基于RecA的三套重组系统均缺失，质粒在复制过程发生重组、丢失和串环的可能性降到最低，使得插入片段稳定。
6. EcoK限制功能缺失（*hsdR-*），不能酶切在EcoK位点没有甲基化的DNA，但其修饰功能完整，故可以用EcoK位点非甲基化质粒通过本菌株制备其对应的甲基化质粒，后者可用来转化限制EcoK功能正常（基因型为*hsdR+*）的K-12系的大肠杆菌。
7. 本菌株对常见抗菌素没有抗性。
 |
|  **基因型** | 大肠杆菌DH5菌种的基因型是：K-12,F-,φ80,-,*Δ(argF-lac)169，**lacZ58*(M15), *ΔphoA8*，*glnX44*(AS), *deoR481*, *rfbC1*, *gyrA96*(NalR), *recA1*, *endA1*, *thiE1*, *hsdR17*（各文献上报道的基因型稍微有所不同，此处采用美国耶鲁大学Coli Genetic Stock Center的资料）。大肠杆菌DH5菌种基因型符号及其含义列表如下：

|  |  |
| --- | --- |
| 基因型符号 | 含义 |
| K-12 | K-12系的所有菌种默认都携带F因子和、e14、rac三种原噬菌体。其中的e14携带野生型*mcrA*基因，其产物可对甲基化的CG切割。 |
| F- | 此菌株缺失F因子 |
| - | 此菌株缺失原噬菌体 |
| φ80 | 携带φ80原噬菌体 |
| *Δ(argF-lacZ)U169* | 也叫*ΔlacU169*，来于Hfr3000U169菌种，位于此区域的lac操纵子和过氧化氢敏感基因缺失，使细菌抗过氧化氢，实际缺失*mmuP*到*argF*和*lac*到*mhpD*的区域，实为*Δ(mmuP-mphD)* |
| *rfbC1* | LPS合成缺失，缺失LPS有助于提高转化效率 |
| *deoR481* | *deo*操纵子阻遏蛋白失活，脱氧核糖组成型合成，适合扩增制备质粒 |
| *endA1* | 核酸内切酶I缺失 |
| *glnX44（Am）* | 同*supE*和*glnV*，使琥珀终止子编码谷氨酰胺，为部分噬菌体生长所需 |
| *gyrA96* | DNA促旋酶失活，导致对萘啶酮酸和荧光喹啉的抗性 |
| *hsdR17* | EcoK系统的限制性内切酶Eco失活，不酶切非甲基化的Eco位点 |
| *ΔlacZ58M15* | 原*ΔlacZM15*，携带来于M15菌株的、编码-半乳糖苷酶的片段，与编码-半乳糖苷酶片段的质粒互补可，恢复酶活性，用于蓝白斑筛选 |
| *recA1* | ATP依赖型重组酶失活，*recBCD*、*recE*和*recF*三条重组路径均复丧失，重组率降低1万倍。适合扩增有回文结构的高拷贝质粒 |
| *thiE1* | 原*thi-1*，不能合成硫氨（维生素B1） |

 |
| **规格及成分** | 本产品使用塑料袋包装

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 成分 | 编号 | 规格 | 塑料袋包装 |
| 大肠杆菌DH5α甘油菌 | 2-0011 | 1 mL | 2.0mL红盖管 |
| 使用手册 | 2-0011sc | 1份 | 无 |

 |
| **原始文献** | Hanahan D.1983. Studies on transformation of Escherichia coli with plasmids. *J. Mol.* 166:557-580. |
| **运输及保存** | 低温运输，-80℃保种保存，有效期一年。 |
| **使用方法** | 本产品可用于常规大肠杆菌感受态细胞制备、转化等实验，具体步骤请见分子克隆手册等工具书。 |
| **关联产品** | 大肠杆菌DH1甘油菌 |

20181203MH