

## T-Fast Competent *E. coli*

### T-Fast 感受态细胞

目录号: CB109

储存条件: -70°C冻存

产品内容:

产品组成	CB109-02
T-Fast	20×100 μl
Compcell Control Plasmid pUC19 (0.1 ng/μl)	10 μl

Order: 010-59822688

Toll-free: 800-990-6057/400-810-6057

TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD.

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

### 产品简介

本公司生产的T-Fast感受态细胞源于*Escherichia coli* K12菌株。T-Fast菌株是经特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于DNA的化学转化, 使用pUC19质粒检测, 转化效率可达 $1 \times 10^8$  cfu/μg DNA。T-Fast感受态细胞中突变的 $\Delta lacZM15$ 基因产物与载体携带的 $\beta$ -半乳糖苷酶基因表达产物实现 $\alpha$ 互补, 加入*lacI<sup>q</sup>*基因更严谨的控制Lac启动子的开启, 从而较大的降低了蓝白斑筛选中的假阳性率。此外, T-Fast感受态细胞中*endA1*的突变有利于克隆DNA的稳定和高纯度质粒DNA的提取, 且质粒得率要高于其他常用克隆菌株。本菌株具有T1噬菌体抗性(*fhuA2*)及四环素抗性。

每支感受态可以酌情分装使用, 降低了实验的成本。质量稳定, 使用方便, 质优价廉。

基因型:

$F^+$  *proA<sup>+</sup>B<sup>+</sup> lacI<sup>q</sup> ΔlacZM15 / fhuA2 Δ(lac-proAB) glnV galK16 galE15 R(zgb-210::Tn10) Tet<sup>R</sup> endA1 thi-1 Δ(hsdS-mcrB)5*

### 产品特点

**快速:** 菌株生长快速, 涂布于琼脂平板后6h可见菌落; 过夜培养的单克隆于液体LB培养基中培养4h即可用于质粒提取。

**高质粒得率:** T-fast感受态细胞质粒得率高于DH5  $\alpha$  约20%。

**快速转化:** 适用于Amp<sup>R</sup>载体的5 min快速转化流程。

**阳性率高:** 携带*lacI<sup>q</sup>*基因, 可更严谨的控制Lac启动子的开启, 从而提高蓝白斑筛选的阳性率。

### 操作步骤 (以下操作均按无菌条件的标准进行)

#### 一. 高效转化流程:

1. 取感受态细胞置于冰水浴中, 如需分装可将刚融化细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中, 置于冰水浴中。

**注意:** 一次转化感受态细胞的建议用量为50-100μl, 可以根据实际情况分装使用。应注意所用DNA体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一。以下实验以100 μl感受态细胞为例。

2. 待感受态完全融化以后, 向感受态细胞悬液中加入目的DNA (100 μl的感受态细胞能够被1 ng超螺旋质粒DNA所饱和), 轻轻混匀, 不要涡旋, 并在冰浴中静置30 min。

3. 将转化体系于42°C水浴中放置60~90 sec, 然后快速将转化体系转移到冰浴中, 使细胞冷却2~3 min, 该过程不要摇动离心管。

4. 向转化体系中加入900 μl无菌的SOC或LB培养基 (不含抗生素), 混匀后置37°C摇床振荡培养45~60 min (150 rpm), 目的是为了质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。

5. 将转化体系混匀, 吸取100 μl已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的SOB或LB固体琼脂培养基上, 用无菌的涂布棒轻轻的将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37°C培养8~12 h。

#### 二. 5 min 快速转化流程:

1. 取感受态细胞置于冰水浴中, 如需分装可将刚融化细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中, 置于冰水浴中。以下实验以100 μl感受态细胞为例。

2. 待感受态完全融化以后, 向感受态细胞悬液中加入目的DNA (100 μl的感受态细胞能够被1ng超螺旋质粒DNA所饱和), 轻轻混匀, 不要涡旋, 并在冰浴中静置2 min。

3. 将转化体系于42°C水浴中放置60~90sec, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却2 min, 该过程不要摇动离心管。

4. 向转化体系中加入900  $\mu$ l 无菌的SOC或LB培养基（不含抗生素）混匀。混匀后, 吸取100  $\mu$ l 已转化的感受态细胞直接加到含相应抗生素的SOB或LB固体琼脂培养基上, 用无菌的涂布棒轻轻的将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37°C培养8~12 h。

**注意：涂布用量可根据具体实验来调整。如转化的DNA总量较多, 可取更少量转化产物涂布平板；反之, 如转化的DNA总量较少, 可取200-300  $\mu$ l 转化产物涂布平板。如果预计的克隆较少, 可通过离心（4000 rpm, 2 min）后吸除部分培养液, 悬浮菌体后将其涂布于一个平板中。（涂布剩余的菌液可置于4°C保存, 如果次日的转化菌落数过少可以将剩下的菌液再涂布新的培养板）。**

2. 5 min快速转化流程只适用于Amp<sup>R</sup>抗性的载体转化；

3. 感受态细胞应保存在-70°C, 不可冻融和放置时间过长, 以避免降低感受态细胞的转化效率；

4. 进行转化操作时, 应根据相应温度及无菌条件的要求进行；

5. 为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接反应液, 以重新转化, 将损失降到最低。

### 注意事项

1. 高效转化流程的转化效率要高于5 min快速转化流程, 因此对于追求菌落个数的实验而言建议采用高效转化流程；