

T-Fast Competent *E. coli*

T-Fast 感受态细胞

目 录 号: CB109

储存条件: -90~-65℃冻存半年，避免反复冻融

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

保质期: 6个月，生产日期见管盖

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 1×10^8 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 β -半乳糖苷酶基因表达产物实现 α 互补，加入*lacI^f*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:
 $F' proA^+ B^+ lacI^f \Delta lacZM15 / fhuA2 \Delta(lac-proAB) glnV galK16 galE15 R(zgb-210::Tn10) Tet^R endA1 thi-1 \Delta(hsdS-mcrB)5$

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 α 约20%。

快速转化：适用于Amp^R载体的5 min快速转化流程。

阳性率高：携带*lacI^f*基因，可更严谨的控制Lac启动子的开启，从而提高蓝板白筛选的阳性率。

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：

- 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。
- 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。

- 将转化体系于42℃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。
- 向转化体系中加入900 μl无菌的SOC或LB培养基（**不含抗生素**），混匀后置于37℃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。
- 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℃培养8～12 h。

二. 5 min 快速转化流程：

- 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。
- 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℃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 μl无菌的SOC或LB培养基（不含抗生素）混匀。混匀后，吸取100 μl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℃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 μl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℃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^R抗性的载体转化；
3. 感受态细胞应保存在-90~-65℃，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；