



TG1 电转感受态细胞

TG1 Electroporation Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1018D

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1018D-1	TG1 感受态细胞	5×50μl
<input type="checkbox"/> ZC1018D-2	TG1 感受态细胞	20×50μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl)5μl (质量控制用)。

储存: -70°C 保存六个月。

产品介绍:

TG1 电击感受态细胞只能用于电击转化, 不能用于热激转化。TG1 来源于 E. coli K-12 菌株, 是目前生长速度最快的克隆用大肠杆菌菌株, 在平板上 37°C, 7h 可见克隆。主要的噬菌体展示用菌株, 同时也可用于普通质粒的构建, lacIqZΔM15 的存在使其可以用于蓝白斑筛选等实验; 但不含核酸酶 endA1 突变, 体内核酸酶含量较高, 提取质粒时推荐使用质粒提取试剂盒中去蛋白液以去除菌体内大量的核酸酶。TG1 电击感受态细胞适用于噬菌体展示文库的构建, 经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率 $>0.5 \times 10^{10}$ cfu/μg DNA。

基因型为: [F' traD36 proAB lacI^qZΔM15] supE thi-1 Δ(lac-proAB) Δ(mcrB-hsdSM)5(r_K⁻m_K⁻)

操作方法:

1. 0.1cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5min, 待其沥干水分, 正置 5min, 使乙醇充分挥发, 待乙醇挥发干净立即插入冰中, 压实冰面, 电极杯顶离冰面 0.5cm 以方便盖上杯盖, 冰中静置 5min 充分降温。

2. 取 -70°C 保存的 TG1 电击感受态细胞插入冰中 5min, 待其融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打离心管底轻轻混匀, 避免产生气泡, 立即插入冰中。

A. 测定转化效率使用 1μl 0.1ng/μl 的对照质粒 pUC19;

B. 对于连接产物, 请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液 (10mM Tris-HCl, pH7.5; 1mM EDTA) 重悬, DNA 浓度不超过 100ng/μl, 体积不超过 5μl/50μl 感受态。

3. 用 200μl 枪头 (用刀切除 0.5cm 枪尖) 将感受态 -DNA 混合物快速移到电击杯中, 避免产生气泡, 盖上杯盖。

4. 启动电转仪, 设置参数: C=25μF, PC=200Ω, V=1.8kV (BioRad 电转仪推荐参数); 也可按所用电转仪推荐的参数操作。将电击杯快速放入电转槽中, 电击完成快速插入冰中。

5. 2min 后从冰中取出电击杯, 放室温, 加入 700μl 不含抗生素的无菌 S.O.C. 培养基 (室温), 用 1ml 枪吹吸电击杯底部数次混匀后, 转移到 50ml 离心管 (BD Falcon 50ml 锥形离心管等), 向离心管中补加 S.O.C. 培养基至 10ml。倾斜 45 度放入摇床, 37°C, 225rpm 复苏 60min。

6. 5000rpm 离心 1min 收菌, 重悬后取 100-200μl 涂布到含相应抗生素的 S.O.C 平板上 (因菌量较大, 若全部涂板请选用直径 15cm 培养皿 2-5 个)。将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养 13-17h。



注意事项：

1. 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 电击感受态细胞加入电击杯应避免产生气泡, 气泡会增加弧光放电风险。
3. DNA 加入到细胞中后, 立即进行电击操作; 电击完成后立刻加上 LB 或 SOC 等复苏培养基, 每分钟延迟加入会导致 3 倍转化效率的降低。
4. 电击杯里的离子可增加溶液的电导增大在含有细胞和 DNA 的溶液中产生电流和弧光放电的风险。
5. 当 DNA 不纯或存在盐, 乙醇, 蛋白及缓冲液等污染时, 转化效率急剧下降。
6. 若转化大质粒或想获得较高转化效率, 推荐使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒。质粒增大一倍, 转化效率下降一个数量级。
7. 对于连接产物转化, 最好转化前乙醇沉淀 DNA 后用适量 TE 缓冲液 (10mM Tris HCl, pH7.5; 1mM EDTA) 重悬产物, 保证 DNA 浓度不超过 100ng/μl。过高浓度连接产物或过大体积连接产物会降低转化效率, 增加弧光放电的风险。
8. 混入质粒时应轻柔操作, 吸取感受态细胞时不可用孔径过小的枪头 (普通 200μl 枪头应剪去枪头尖 0.6cm) 避免用力过猛, 以免剪切力过大损伤细胞膜, 降低转化效率。转化高浓度的质粒或连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
9. 电击感受态细胞最好保存在 -70°C 以下, 高于 -70°C 超期储存会导致转化效率下降。

ZOMANBIO