

TG1 电转感受态细胞

TG1 Electroporation-Competent Cell

产品规格:

货号、数量、规格:	保存条件: -80°C
KW-EC-96170 (5*50ul)	

基因型

[F' traD36 proAB lacIqZ M15] supE thi-1 (lac-proAB)
(mcrB-hsdSM) 5 (rK - mK -)

简要说明

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，7 h 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，lacIqZ M15 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。

操作说明

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5分钟，待其沥干水分，正置5分钟，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5分钟充分降温。
2. 取-80℃保存的TG1电击感受态细胞插入冰中5分钟，待其融化，加入目的DNA(质粒或连接产物)并用手拨打 EP 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 1 μ l 10 pg/ μ l 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 (10 mM Tris HCl, pH7.5; 1 mM EDTA)重悬，DNA 浓度不超过 100 ng/ μ l，体积不超过 5 μ l/50 μ l 感受态。
3. 用 200 μ l 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=25 μ F，PC=200 Ω ，V=1.8 kV (此为 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. 立即向电击杯中加入1000 μ l不含抗生素的无菌培养基 S. O. C.，混匀后转移到空50ml管中，并用1ml SOC轻柔冲洗电转杯并转移到50ml管中，另补加3ml SOC培养基，37℃，200 rpm 复苏60分钟。
6. 5000 rpm 离心一分钟收菌，重悬后取 100-200 μ l 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℃培养箱过夜培养 13-17 小时。

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. 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。
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. 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。
6. 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 (10 mM Tris HCl, pH7.5; 1 mM EDTA) 重悬产物，保证DNA浓度不超过100 ng/ μ l。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。
7. 入质粒时应轻柔操作，吸取感受态细胞时避免用力过猛，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。
8. 电击感受态细胞最好保存在-80℃以下，高于-80℃超期储存会导致转化效率会下降。