

Trelief® 5α Chemically Competent Cell

■ 目录号

TSC-C01-96A

■ 基因型

F⁻ ϕ 80(*lacZ*) Δ M15 Δ (*lacZYA -argF*)U169 *deoR recA1 end A1 hsdR17*(rK⁻, mK⁺) *phoA supE44* λ ⁻ *thi -1 gyrA96 relA1*

■ 产品简介

Trelief® 5α是转化效率大于 10¹⁰ cfu/μg 的化学感受态细胞，采用大肠杆菌 DH5α的突变株，结合本公司独创的超高效感受态制备缓冲液及特殊的制备工艺，转化效率达到电转化感受态细胞同一级别，对 > 15 kb 质粒的转化效率亦无明显降低，最高可转化 50 kb 大小的质粒。本产品对四环素不敏感，可转化除四环素外的大部分抗性质粒。本产品兼容 Amp 抗性质粒的 10 min 快速转化流程及 Kana 抗性质粒的 30 min 快速转化流程，可用于常规的克隆、蓝白斑筛选、珍贵核酸样品的转化，DNA/cDNA 文库构建等实验。使用 pUC19 质粒 DNA 检测，转化效率高 1.5×10¹⁰ cfu/μg。

■ 产品组成

组分	规格
Trelief® 5α Chemically Competent Cell	100 μL/孔, 0.2 mL 96 孔板
pUC19 (Control Vector)	10 μL(10 pg/μL)

■ 使用方法

● 常规转化流程

1. 取冰上融化的 96 孔感受态细胞，加入目的 DNA（质粒或连接产物），轻轻混匀（用移液枪轻柔吹打 6 次左右），将 96 孔感受态密封好，冰上静置 30 min。
2. 42℃ 水浴热激 45~60 s，迅速转移至冰浴中，静置 2 min（冰上静置过程中请勿晃动样品，否则会降低转化效率）。
3. 向 96 孔板各孔中加入 100 μL 不含抗生素的无菌液体培养基（SOB 或 LB），混匀后，将 96 孔感受态密封好，37℃，静置复苏 60 min（期间每 20 min 水平晃动一次）。

4. 根据实验需要，取合适体积的复苏液均匀涂布到含相应抗生素的 SOB 或 LB 培养基上，将平板倒置放于 37℃ 培养箱过夜培养。

● 快速转化流程

a. Amp 抗性质粒

1. 取冰上融化的 96 孔感受态细胞，加入目的 DNA（质粒或连接产物），轻轻混匀（用移液枪轻柔吹打 6 次左右），将 96 孔感受态密封好，冰上静置 5 min。
2. 42℃ 水浴热激 45~60 s，迅速转移至冰浴中，静置 2 min（冰上静置过程中请勿晃动样品，否则会降低转化效率）。
3. 向 96 孔板各孔中加入 100 μL 不含抗生素的无菌液体培养基（SOB 或 LB），混匀后，取合适体积的复苏液均匀涂布到含 Amp 抗生素培养基上，或不加培养液直接涂布，37℃ 培养箱倒置培养过夜。

b. Kana 抗性质粒

1. 取冰上融化的 96 孔感受态细胞，加入目的 DNA（质粒或连接产物），轻轻混匀（用移液枪轻柔吹打 6 次左右），将 96 孔感受态密封好，冰上静置 5 min。
2. 42℃ 水浴热激 45~60 s，迅速转移至冰浴中，静置 2 min（冰上静置过程中请勿晃动样品，否则会降低转化效率）。
3. 向 96 孔板各孔中加入 100 μL 不含抗生素的无菌液体培养基（SOB 或 LB），混匀后，将 96 孔感受态密封好，37℃，静置复苏 20 min。
4. 取合适体积的复苏液均匀涂布到含 Kana 抗生素培养基上，37℃ 培养箱倒置培养过夜。

附：Kana 抗性的质粒快速转化流程必须增加复苏这一步骤，这是由于 Amp 抗生素和 Kana 抗生素的作用机理不同。Amp 抗生素阻止细菌细胞壁的合成以抑制细菌生长，但不影响 Amp 抗性基因的表达，抗性基因表达产物降解 Amp 抗生素后细菌正常生长扩繁；Kana 抗生素能与细菌 30 S 核糖体结合从而使 mRNA 密码误读，Kana 抗性基因无法表达，抗生素不被降解、细菌无法生长。因此 Kana 抗性质粒的转化必须增加复苏步骤，使细菌细胞内积累一定量的抗性基因表达产物。

■ 注意事项

1. 感受态细胞在冰上融化；
2. 实验过程中轻柔操作；
3. 请勿反复冻融；
4. 目的质粒或连接产物不能超过感受态总体积的 1/10；
5. 珍贵核酸样品的转化请务必使用常规转化流程。

■ 常见问题及解决方案

Q1: 转化后不长菌或菌落极少?

- 检查上游构建是否有问题：查看样品浓度、连接比例、温度、时间是否合适，建议做一个构建阳性对照。
- 检查感受态细胞是否失效：设置一组质粒转化阳性对照验证感受态效率，建议每次使用妥善冻存的感受态细胞，感受态勿反复冻融。
- 平板是否有问题：抗生素种类是否正确、添加是否过量，建议重新配制平板。

Q2: 转化后平板上无单克隆，出现类似白色浆状物菌膜?

- 抗生素无效或浓度过低，操作中引入杂菌：重新转化质粒，更换抗生素。
- 涂布后，平板未晾干。
- 转化时，质粒添加过量。

Q3: 生长速度慢，菌落小?

- 复苏时间过短：延长复苏时间，提高菌落在平板上的生长速度。
- 培养基或基因质量：若生长时间超过 18 h 菌落仍然很小，可能是培养基质量低下或者基因本身存在毒性抑制细菌生长，建议更换高质量培养基。

Q4: 长杂菌或微卫星菌落?

- 抗生素失效或有效浓度下降：配制平板时培养基温度过高、平板配制时间过长、抗生素母液配制时间过长、使用了劣质抗生素，建议重新配制平板或更换高质量抗生素。
- 污染相同抗性菌落：更换所用试剂、耗材，无菌操作。推荐做转化实验之前，使用擎科核酸清洁液（目录号：TSP001）喷洒实验台、实验仪器、用具，消除污染。

■ 保存条件

-83~-78℃ 保存 6 个月。

■ 技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议，欢迎随时与我们联系：
product@tsingke.com.cn。

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。