

## Trelief® 5α Chemically Competent Cell Trelief® 5α感受态细胞

### 目录号

DLC101  
DLC101-100

### 基因型

F:  $\phi 80(lacZ)\Delta M15 \Delta(lacZYA-argF)U169 deoR recA1 endA1 hsdR17(rK, mK^+) phoA supE44 \lambda thi-1 gyrA96 relA1$

### 产品简介

Trelief® 5α是转化效率大于 $10^{10}$  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,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,转化效率高达 $1.5 \times 10^{10}$  cfu/μg。

### 产品组成

组分	DLC101	DLC101-100
Trelief® 5α Chemically Competent Cell	100 μL×10支	100 μL×100支
pUC19 (Control Vector) <sup>a</sup>	10 μL(10 pg/μL)	10 μL(10 pg/μL)

a. 阳性对照质粒,抗性为Amp,用于验证感受态转化效率。

01

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

### 产品应用

本产品适用于常规克隆、蓝白斑筛选、珍贵核酸样品的转化、DNA/cDNA文库构建等实验。

### 产品特点

- 转化效率高,转化效率可达 $10^{10}$  cfu/μg。
- 快速转化,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。

### 使用方法

#### 1. 常规转化流程

- 取100 μL冰上融化的感受态细胞,加入目的DNA(质粒或连接产物),轻轻混匀(轻柔吹打或轻弹管壁数下),冰上静置30 min。
- 42°C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)。
- 向离心管中加入700 μL不含抗生素的无菌液体培养基(SOB或LB),混匀后37°C,200 rpm复苏60 min。
- 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°C培养箱过夜培养。

#### 2. 快速转化流程

##### A. Amp抗性质粒

- 取100 μL冰上融化的感受态细胞,加入目的DNA(质粒或连接产物),轻轻混匀(轻柔吹打或轻弹管壁数下),冰上静置5 min。
- 42°C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)。
- 向离心管中加入700 μL不含抗生素的无菌液体培养基(SOB或LB),取合适体积的复苏液均匀涂布到含Amp抗生素培养基上,或不加培养基直接涂布,37°C培养箱倒置培养过夜。

##### B. Kana抗性质粒

02

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

- 取100 μL冰上融化的感受态细胞,加入目的DNA(质粒或连接产物),轻轻混匀(轻柔吹打或轻弹管壁数下),冰上静置5 min。
- 42°C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)。
- 向离心管中加入700 μL不含抗生素的无菌液体培养基(SOB或LB),混匀后37°C,200 rpm复苏20 min(复苏时间每增加5 min转化效率提高3~5倍)。
- 取合适体积的复苏液均匀涂布到含Kana抗生素培养基上,37°C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张;Kana抗生素能与细菌30S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

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

### 应用实例

#### 1. 以转化质粒pUC19为例

##### A. 常规转化流程

- 取100 μL冰上融化的Trelief® 5α感受态细胞,加入10 μL pUC19 (1 pg/μL, Amp<sup>r</sup>),轻轻吹打混匀,冰上静置30 min。

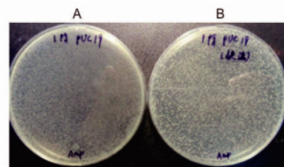
03

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

- 42°C水浴热激45~60 s,迅速转移至冰浴中,静置2 min。
- 向离心管中加入700 μL无抗性LB培养液,37°C/200 rpm复苏60 min。
- 吸取80 μL复苏液(1 pg质粒当量)均匀涂布到含Amp抗性培养基上,37°C培养箱倒置培养过夜,结果如下(图1-A)。

##### B. 快速转化流程

- 取100 μL冰上融化的Trelief® 5α感受态细胞,加入10 μL pUC19 (1 pg/μL, Amp<sup>r</sup>),轻轻吹打混匀,冰上静置5 min。
- 42°C水浴热激45~60 s,迅速转移至冰浴中,静置2 min;
- 向离心管中加入700 μL无抗性LB培养液,不复苏直接吸取80 μL(1 pg质粒当量)均匀涂布到含Amp抗性培养基上,37°C培养箱倒置培养过夜,结果如下(图1-B)。



注:A(常规转化)转化子大于 $1.5 \times 10^{10}$  cfu/μg  
B(快速转化)转化子大于 $4 \times 10^9$  cfu/μg

图1. 普通pUC19质粒的常规转化及快速转化

#### 2. 以TA克隆为例

##### A. 常规转化流程

- 取100 μL冰上融化的Trelief® 5α感受态细胞,加入10 μL pClone007克隆产物(pClone007 Blunt Vector(Amp, 1.9 kb)+Insert A(3 kb)),轻轻吹打混匀,冰上静置30 min。

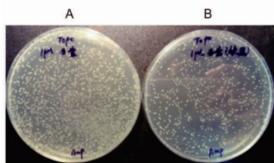
04

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

- 2) 42°C水浴热激45~60 s, 迅速转移至冰浴中, 静置2 min.
- 3) 向离心管中加入700 μL无抗性LB培养液, 37°C/200 rpm复苏60 min.
- 4) 吸取80 μL复苏液(1 μL连接产物当量)均匀涂布到含Amp抗性培养基上, 37°C培养箱倒置培养过夜, 结果如下(图2-A)。

#### B. 快速转化流程

- 1) 取100 μL冰上融化的Trelief® 5α感受态细胞, 加入10 μL pClone007克隆产物(pClone007 Blunt Vector (Amp, 1.9 kb)+Insert A(3 kb)), 轻轻吹打混匀, 冰上静置5 min.
- 2) 42°C水浴热激45~60 s, 迅速转移至冰浴中, 静置2 min.
- 3) 向离心管中加入700 μL无抗性LB培养液, 不复苏直接吸取80 μL(1 μL连接产物当量)涂板, 37°C培养箱倒置培养过夜, 结果如下(图2-B)。



注:A(常规转化)转化子大于2000 cfu/μL  
B(快速转化)转化子大于1000 cfu/μL  
图2. 普通连接克隆的常规转化及快速转化

### 3. 重组克隆转化(以pET28a, pGADT7重组为例)

#### A. 常规转化流程

- 1) 取两支100 μL冰上融化的Trelief® 5α感受态细胞, 分别加入10 μL Trelief® SoSoo重组克隆产物(pET28a(Kana, 5.3 kb)+Insert C(4 kb), pGADT7(Amp, 8 kb)+Insert B(4 kb)), 轻轻吹打混匀, 冰上静置30 min.
- 2) 42°C水浴热激45~60 s, 迅速转移至冰浴中, 静置2 min.

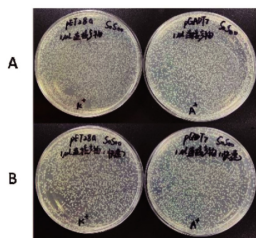
05

本产品仅供研究使用, 不用于临床诊断。

- 3) 向离心管中加入700 μL无抗性LB培养液, 37°C/200 rpm复苏60 min.
- 4) 分别吸取80 μL复苏液(1 μL连接产物当量)均匀涂布到含相应抗性培养基上, 将平板倒置放于37°C培养箱过夜培养, 结果如下(图3-A)。

#### B. 快速转化流程

- 1) 取两支100 μL冰上融化的Trelief® 5α感受态细胞, 分别加入10 μL Trelief® SoSoo重组克隆产物(pET28a(Kana, 5.3 kb)+Insert C(4 kb), pGADT7(Amp, 8 kb)+Insert B(4 kb)), 轻轻吹打混匀, 冰上静置5 min.
- 2) 42°C水浴热激45~60 s, 迅速转移至冰浴中, 静置2 min.
- 3) 向离心管中加入700 μL无抗性LB培养液, pET28a重组的质粒37°C/200 rpm复苏20 min, pGADT7重组质粒不复苏。
- 4) 分别吸取80 μL复苏液(1 μL连接产物当量)均匀涂布到含相应抗生素的培养基上, 37°C培养箱倒置培养过夜, 结果如下(图3-B)。



注:A(常规转化)pET28a转化子大于4000 cfu/μL,  
PGADT7转化子为8000 cfu/μL  
B(快速转化)pET28a转化子大于1500 cfu/μL,  
PGADT7转化子为3000 cfu/μL  
图3. 重组克隆的常规转化及快速转化

06

本产品仅供研究使用, 不用于临床诊断。

#### 保存条件

-83~-78°C保存6个月。≤-78°C运输。

#### 常见问题与解决方法

常见问题	可能原因	解决方案
转化后不长菌或菌落少	构建不成功	查看样品浓度、连接比例、温度、时间是否合适, 建议设置对照质粒转化
	感受态细胞失效	使用妥善冻存的感受态细胞, 感受态勿反复冻融
	平板问题	检查抗生素种类是否正确、添加是否过量, 建议重新配制平板
转化后平板上无单克隆, 出现类似白色浆状物菌膜	引入杂菌	重新转化质粒, 更换抗生素
	平板未晾干	涂布平板后请晾干
	质粒添加过量	添加合适体积的质粒转化
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
	培养基质量低	更换高质量培养基
	抗生素失效或有效浓度下降	重新配制平板或更换高质量抗生素
长杂菌或微卫星菌落	污染相同抗性菌落	无菌操作, 利用核酸清洁液(推荐使用 Trelief® Solution, 目录号: TSP001)清洁实验环境

07

本产品仅供研究使用, 不用于临床诊断。

#### 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.

#### 关联产品推荐

产品名称	货号	解决方案
FlashPure快速质粒小提试剂盒	DLN702	适用于1~5 mL菌液小量质粒DNA快速提取
T5菌P专家	DLP102	适用于克隆鉴定与微生物模板的直接扩增实验
T载体菌检试剂	DLP601	适用于TA克隆菌落鉴定实验
pClone007 TOPO克隆通用试剂盒	DLV103	适用于TA克隆与平末端克隆
Trelief®无缝克隆试剂盒	DLV201	适用于无缝克隆与定点突变等实验



08

地址: 常州市惠东开发区建设大道216号东城南智晟楼7楼



1.1.2.20240327