

Efficom 5α Chemically Competent Cell

目录号

GS0010

基因型

F- ϕ 80d/*lacZ* Δ M15 Δ (*lacZYA-argF*)U169 *deoR recA1 endA1 hsdR17* (*r_K⁻, m^{K+}*) *phoA supE44*
 λ - *thi-1 gyrA96 re/A1*

产品组成

组分	规格
<i>Efficom 5α</i> Chemically Competent Cell	10 × 100 μ L
pUC19(Control Vector,10 pg/ μ L)	10 μ L

保存条件

-80°C保存 6 个月。

产品简介

Efficom 5α Chemically Competent Cell 采用大肠杆菌 DH5 α 突变株经特殊工艺制作，可用于 DNA 的化学转化，使用 pUC19 质粒 DNA 检测，转化效率高达 1.5×10^{10} cfu/ μ g。本产品对于 > 15 kb 质粒的转化效率无明显降低，最大可转化 50 kb 质粒。重组酶缺陷型 (*recA1*) 减少插入片段的同源重组率，保证了插入 DNA 的稳定性，*lacZ* Δ M15 的存在使 *Efficom 5α* 可用于蓝白斑筛选。

产品特点

- ✧ 超高的转化效率：兼容 Amp 抗性质粒的 10 min 快速转化及 Kana 抗性质粒的 30 min 快速转化；
- ✧ *recA1*和 *endA1*的突变有利于 DNA 的稳定克隆及高纯度质粒 DNA 的提取。

适用范围

适用于 DNA 的化学转化、蓝白斑筛选等实验。

注意事项

1. 本产品具有链霉素抗性；
2. 请勿将感受态反复冻融；
3. 感受态细胞应插入冰上缓慢融化（请勿用手握化）后立即加入目的 DNA，此时转化效率最高（感受态细胞融化后长时间置于冰上不加入目的 DNA 会降低转化效率）；
4. 加入目的 DNA 时应轻柔操作；
5. 目的 DNA 不能超过感受态总体积的 1/10；
6. 微量目的 DNA 转化时，建议按照常规转化方法进行；
7. Kana 抗性质粒快速转化流程必须复苏至少 20 min。由于 Amp 抗生素和 Kana 抗生素作用机理不同，Amp 抗生素通过阻止细菌细胞壁的合成为抑制细菌生长，Kana 抗生素与细菌 30S 核糖体结合从而使 mRNA 密码误读，因此 Kana 抗性质粒的转化须复苏，使细菌细胞内积累一定量的抗性基因表达产物。

使用方法

一、常规转化流程

- 1) 取 100 μ L 冰上融化的感受态细胞，加入目的 DNA（质粒或连接产物），轻柔混匀，冰上静置 30 min；
- 2) 42°C 水浴热激 45 s，迅速冰上静置 2 min（注意不要晃动离心管，以免降低转化效率）；
- 3) 向离心管中加入 700 μ L 不含抗生素的无菌培养基（2 \times YT 或 LB），混匀后 37°C，200 rpm 复苏 1h；
- 4) 根据实验需求吸取不同体积的感受态细胞加到含有相应抗生素的 2 \times YT 或 LB 固体培养基上，均匀涂开后吹干平板；
- 5) 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。

二、快速转化流程

1. Amp 抗性质粒 10 min 快速转化流程

- 1) 取 100 μ L 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，冰上静置 5 min；
- 2) 42°C 水浴热激 45 s，迅速放回冰上静置 2 min（该过程注意不要晃动离心管，以免降低转化效率）；
- 3) 向离心管中加入 700 μ L 不含抗生素的无菌培养基（2 \times YT 或 LB），混匀后根据实验需求吸取不同体积的感受态细胞加到含有相应抗生素的 2 \times YT 或 LB 固体培养基上，均匀涂开后吹干平板；

4) 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。

2. Kana 抗性质粒 30 min 快速转化流程

- 1) 取 100 μ L 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，冰上静置 5 min；
- 2) 42°C 水浴热激 45 s，迅速放回冰上静置 2 min（该过程注意不要晃动离心管，以免降低转化效率）；
- 3) 向离心管中加入 700 μ L 不含抗生素的无菌培养基（2×YT 或 LB），混匀后 37°C，200 rpm 复苏至少 20 min；
- 4) 根据实验需求吸取不同体积的感受态细胞加到含有相应抗生素的 2×YT 或 LB 固体培养基上，均匀涂开后吹干平板；
- 5) 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。

常见问题与解决办法

Q1：转化后平板不长菌或长菌数较少？

A1：

- 1) 上游连接效率较低。建议检查上游插入片段质量、连接比例、反应温度及时间是否合适；
- 2) 感受态细胞失效或效率降低。使用新鲜感受态细胞，感受态请勿反复冻融，建议使用本产品中附带 pUC19 质粒做一组阳性对照实验；
- 3) 抗生素存在问题。检查抗生素是否失效，抗生素种类、用量是否正确，建议重新配制平板重复实验。

Q2：转化后平板出现卫星菌落或杂菌？

A2：

- 1) 抗生素存在问题。检查抗生素是否失效，用量是否正确，氨苄抗性可适当提高抗生素浓度；
- 2) 培养温度或时间不合适。检查培养箱温度，37°C 培养时间不宜过长；
- 3) 存在污染。感受态细胞在操作过程中被污染，建议做一组阴性对照实验（不加 DNA 只转化空感受态于抗性平板）检查操作过程是否污染了相同抗性的菌株。若存在污染，建议更换试剂及耗材，可使用核酸清洁剂（目录号：GS70090）对实验台面、环境进行清洁。