

TG1 Electroporation-Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DE1055)

TG1 Electroporation-Competent Cell	50μl /支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件 (保质期):	-80°C (6个月)

● 基因型

[F' *traD36 proAB lacI^qZΔM15*] *supE thi-1 Δ(lac-proAB) Δ(mcrB-hsdSM)5*(*r_Km_K*)

● 产品说明

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, *lacI^qZΔM15* 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 胞内含有 F' 附加体, 是菌毛的编码来源, 这使得 TG1 可以被丝状噬菌体 M13、M13KO7 等高效感染。TG1 基因组中的脯氨酸合成酶被突变, 不含 F' 附加体的 TG1 是脯氨酸缺陷型菌株, F' 附加体上含有一个有功能的脯氨酸合成酶, 可以互补 TG1 的脯氨酸缺陷表型, 在 M9 培养基生长时, 可以防止 F' 附加体丢失。同时 F' 附加体丢失的概率极低, 也有很多文章中只用 LB/2YT 培养 TG1。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 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 > 1 × 10¹⁰ cfu/μg DNA。

● 操作方法

1. 取适量 SOC 放 37 度预热 1-2 小时 (每管感受态准备 10ml SOC)。
2. 0.1 cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5 分钟沥干水分, 正置 5 分钟, 待乙醇挥发干净立即插入冰中, 压实冰面, 电击杯顶离冰面 0.5 cm 以方便盖上杯盖, 冰中静置 5 分钟充分降温。
3. 取 -80°C 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 μl 10 pg/μl 的对照质粒 pUC19;
 - B. 对于连接产物, 部分公司的 T4 连接酶体系或重组体系可与电击感受态混合后电击转化, 无需进行 DNA 纯化, 但 DNA 浓度不能过高, DNA 浓度不超过 100 ng/μl, 体积不超过 5 μl/50 μl 感受态。
 - C. 对离子浓度较高的 DNA 溶液或反应体系请用膜纯化或乙醇沉淀法纯化 DNA, ddH₂O 溶解后电击转化。
4. 用 200 μl 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), 轻轻晃动使液面保持水平状态, 盖上杯盖, 插入冰中。
5. 启动电转仪, 设置参数: C=25 μF, PC=200 Ω, V=1.8 kV, 将电击杯从冰中拿出, 用吸水纸擦拭表面, 吸干表面

水渍，放入电转槽中，电击完成后拿出电转杯放室温，打开杯盖，15秒内加入0.9ml预热的SOC（此步骤可在电转仪旁操作，无需在超净台操作），用1ml枪吹吸电击杯底部2-3次，混匀后转移到50ml离心管（BD Falcon 50ml离心管等），向离心管中补加S.O.C.培养基至10ml。37°C，225rpm复苏60分钟。

- 5000rpm离心一分钟收菌，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13-17小时。
- 若要获得大量，高纯度质粒，建议在TB培养基（唯地CAT#: CM1018L）中37度摇菌培养（以标准质粒PUC19为例：在TB营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为LB的3-4倍，SOB的2倍）

● 培养基配方:

S.O.C 培养基 (唯地 CAT#: CM1014L) PH 7.0	TB 培养基 (唯地 CAT#: CM1018L) PH 7.2
2% Tryptone	1.2% Tryptone
0.5% Yeast Extract	2.4% Yeast Extract
10 mM NaCl	0.4% 甘油
2.5 mM KCl	0.231% KH ₂ PO ₄
10 mM MgCl ₂	1.254% K ₂ HPO ₄
10 mM MgSO ₄	TB 培养基中添加 0.017M 磷酸二氢钾和
20 mM glucose	0.072M 磷酸氢二钾成分，在大肠杆菌进入
S.O.C. is suitable for use in the final step of cell transformation to obtain maximal transformation efficiency (Hanahan, 1983).	稳定后期可以稳定培养基 pH 值，提高菌体密度。

● 注意事项

- 加入DNA时体积不应大于感受态体积的1/10。
- 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。
- 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。
- 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。
- 若转化大质粒或想获得较高转化效率，推荐使用高纯度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。
- 对于连接产物，最好用膜纯化或乙醇沉淀法纯化DNA后用适量ddH₂O或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。
- 混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。
- 电击感受态细胞最好保存在-80°C以下，高于-80°C超期储存会导致转化效率会下降。