

产品概述

Fast-T1是目前生长速度最快的感受态细胞。外膜受体突变 (*tonA*) 赋予感受态细胞对裂解噬菌体T1和T5的抗性；缺失核酸内切酶 (*endA*) 提高了质粒DNA的产量和质量；重组酶缺陷型 (*recA*) 减少了插入片段的同源重组概率，保证了插入DNA的稳定性；*lacZ*ΔM15使Fast-T1感受态细胞可用于蓝白斑筛选。本公司Fast-T1感受态细胞经过特殊工艺制备，使用pUC19质粒DNA检测，转化效率>10⁸ cfu/μg。

产品组分

组 分	C505-02	C505-03
Fast-T1 Competent Cell*	10 × 100 μl	20 × 100 μl

* 基因型：F-φ80 (*lacZ*) ΔM15 Δ*lacX74* *hsdR* (*r_K*, *m_K*) Δ*recA1398* *endA1 tonA*

保存条件

-85 ~ -65°C保存，干冰运输。

适用范围

实验室常用感受态细胞，适合PCR产物、cDNA以及其他来源的非甲基化DNA的高效转化，适用于质粒转化、基因克隆、蓝白斑筛选等用。

产品特性

- Fast-T1感受态细胞是目前生长速度最快的感受态细胞，在氨苄青霉素抗性平板上，培养8 - 9 h可见克隆；
- 将过夜培养的单克隆在2 ml的LB液体培养基中，培养4 - 5 h即可进行小量质粒提取；
- 适用于高效的DNA克隆和质粒扩增，减少克隆DNA同源重组的发生，提高质粒DNA的产量和质量；
- 具有T1和T5噬菌体抗性；
- 适用于含氨苄青霉素抗性载体的5 min快速转化流程。

注意事项

1. 5 min快速转化流程仅适用于含氨苄青霉素抗性载体的转化；若实验需获得较多菌落数，建议采用高效转化流程。
2. 感受态细胞冰水浴中解冻后应立即使用，长时间放置会降低转化效率。
3. 待转化DNA加入体积不要超过感受态细胞体积的1/10。
4. 加入质粒或连接产物后，请勿用移液枪吸打，轻弹混匀即可。
5. 避免将感受态细胞反复冻融。

实验流程

1. 高效转化流程

- 将Fast-T1感受态细胞从-70°C拿出，迅速置于冰上融化，加入目的DNA(质粒或连接产物)，轻弹管壁混匀(避免用枪吸打)，冰上静置30 min。
- 42°C水浴热激30 sec后，迅速置于冰上静置2 min，切勿摇动离心管。
- 向离心管中加入900 μ l LB或SOC液体培养基(不含抗生素)，混匀后置于37°C，200 rpm摇床中复苏1 h。
- 根据实验要求(质粒或连接产物转化)：若是质粒，可颠倒混匀直接取100 μ l，涂布在含相应抗生素的LB固体培养基平板上；若是连接产物，建议5,000 rpm (2,400 \times g)，离心3 min，弃掉900 μ l上清，用剩余培养基将菌体重悬后，均匀涂布在含相应抗生素的LB固体培养基平板上。
- 将平板正置于37°C培养箱10 min，待菌液被完全吸收后，倒置平板，过夜培养。

2. 快速转化流程(仅适用于含氨基青霉素抗性载体的转化)

- 将Fast-T1感受态细胞从-70°C拿出，迅速置于冰上融化，加入目的DNA(质粒或连接产物)，轻弹管壁混匀(避免用枪吸打)，冰上静置3 min。
- 42°C水浴热激30 sec后，迅速置于冰上静置2 min，切勿摇动离心管。
- 将感受态细胞全部取出，涂布在含相应抗生素的LB固体培养基平板上，将平板正置于37°C培养箱10 min，待菌液被完全吸收后，倒置平板，过夜培养。

附录一：常用抗生素工作浓度

抗生素	工作浓度
Ampicillin	100 μ g/ml
Carbenicillin	100 μ g/ml
Chloramphenicol	33 μ g/ml
Kanamycin	30 μ g/ml
Streptomycin	25 μ g/ml
Tetracycline	15 μ g/ml

附录二：DNA中的转化抑制物种类及去除方式

转化抑制物	去除方式
Detergents	乙醇沉淀
Phenol	酚氯仿抽提及乙醇沉淀
Ethanol or Isopropanol	DNA溶解前彻底晾干
PEG	柱式纯化或酚氯仿抽提及乙醇沉淀
DNA binding proteins	柱式纯化或酚氯仿抽提及乙醇沉淀

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。