



# FT-5a 感受态细胞

## 产品信息:

组成	BC127-03
FT-5a Competent cells	100×100μl
pUC19 质粒	5 μl

**储存条件:** -70℃保存，避免反复冻融。

## 产品介绍:

FT-5a是一种兼容快速转化和常规转化的感受态细胞。对于 Amp 抗性质粒可在 10 min 快速转化完成，Kan 抗性质粒可在 30 min 快速转化完成，也可用于常规的克隆、蓝白斑筛选等实验。pUC19 质粒检测转化效率 $> \times 10^9$  cfu/μg DNA。

## 基因型:

*F-φ80 lac ZΔM15 Δ(lacZYA-arg F) UI69 deoR endA1 recA1 hsdR17(rk-,mk+) supE44λ- thi -1 gyrA96 relA1 phoA*

**菌株抗性:** 对四环素有抗性；对氨苄青霉素、卡那霉素、壮观霉素敏感。

## 使用方法:

### 1. 常规转化流程

- 1) 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，冰上静置 30 min。
- 2) 42℃ 水浴热激 60 s，迅速转移至冰浴中，静置 2 min(冰上静置过程中不要晃动样品)。
- 3) 向离心管中加入 500 μL 不含抗生素的无菌液体培养基（SOB 或 LB），混匀后 37℃，200 rpm 复苏 60 min。
- 4) 取适量体积的复苏液均匀涂布到含相应抗生素的 LB 固体培养基上，将平板倒置放于 37℃ 培养箱过夜培养。

### 2. 快速转化流程

#### A. Amp 抗性质粒

- 1) 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，冰上静置 5 min。
- 2) 42℃ 水浴热激 60 s，迅速转移至冰浴中，静置 2 min(冰上静置过程中不要晃动样品)。
- 3) 向离心管中加入 500 μL 不含抗生素的无菌液体培养基（SOB 或 LB），取适量体积的复苏液均匀涂布到含 Amp 抗生素固体培养基上，或不加液体培养基直接涂布，37℃ 培养箱倒置培养过夜。

#### B. Kan 抗性质粒

- 1) 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，冰上静置 5 min。
- 2) 42℃ 水浴热激 60 s，迅速转移至冰浴中，静置 2 min(冰上静置过程中不要晃动样品)。
- 3) 向离心管中加入 500 μL 不含抗生素的无菌液体培养基（SOB 或 LB），混匀后 37℃，200 rpm 复苏 20 min (复苏时间每增加 5 min 转化效率提高 3~5 倍)。
- 4) 取适量体积的复苏液均匀涂布到含 Kan 抗生素固体培养基上，37℃ 培养箱倒置培养过夜。

**附:** Kan 抗性的质粒转化必须含有复苏步骤，使 Kan 抗性基因表达产物积累一定量后，细菌正常生长。

对于连接产物，比如大质粒，长片段，多片段的质粒构建，为了提高效率，建议增加复苏时间或采用常规转化流程。