



版本号: CB191024

TOP10 Competent *E. coli* TOP10感受态细胞

目录号: CB104

储存条件: -70°C冻存

产品内容:

产品组成	CB104-01	CB104-02
TOP10	10×100 μl	20×100 μl
Compcell Control Plasmid pUC19 (0.1 ng/μl)	10 μl	10 μl

保质期6个月, 生产日期见管盖。

Order: 010-59822688

Toll-free: 800-990-6057/400-810-6057

TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD.

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品简介

本公司生产的TOP10感受态细胞是采用大肠杆菌TOP10菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于DNA的化学转化。使用pUC19质粒检测, 转化效率可达 10^8 cfu/ug, -70°C保存几个月转化效率不发生改变。

每支感受态可以酌情分装使用, 降低了实验的成本。质量稳定, 使用方便, 质优价廉。

TOP10菌株介绍

基因型: F^- , *mcrA* Δ (*mrr-hsd* RMS-*mcr* BC)

ϕ 80, *lacZ* Δ M15, Δ *lac* X74, *recA*1

ara Δ 139 Δ (*ara-leu*) 7697, *galU*

galK, *rps*,L (Str^r) *endA*1, *nupG*

特点: 该菌株适用于高效的DNA克隆和质粒扩增。能保证高拷贝质粒的稳定复制。其 ϕ 80, *lacZ* Δ M15基因的产物可与pUC载体编码的 β -半乳糖苷酶氨基端实现 α 互补, 可用于蓝白斑筛选。

操作步骤

(以下操作均按无菌条件的标准进行)

1. 取感受态细胞置于冰浴中, 如需分装可将刚融化细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中, 置于冰浴中。

注意: 一次转化感受态细胞的建议用量为50-100 μ l, 可以根据实际情况分装使用。应注意所用DNA体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一。以下实验以100 μ l感受态细胞为例。

2. 向感受态细胞悬液中加入目的DNA(100 μ l的感受态细胞能够被1 ng超螺旋质粒DNA所饱和), 轻弹混匀, 在冰浴中静置30 min。

3. 将离心管置于42°C水浴中放置60-90 sec, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却2-3 min, 该过程不要摇动离心管。

注意: 此步骤也可将离心管置于室温进行, 时间不需十分准确, 夏季或室温较高时, 可放置5-8 min左右, 如果室温较低, 可延长至8-15 min左右。条件允许建议使用42°C热激方法。

4. 向每个离心管中加入900 μ l无菌的SOC或LB培养(不含抗生素), 混匀后置于37°C摇床振荡培养45 min (150 rpm), 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。

5. 将离心管内容物混匀, 吸取100 μ l已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的SOB或LB固体琼脂培养基上, 用无菌的弯头玻璃棒轻轻的将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37°C培养12-16 h。

注意: 涂布用量可根据具体实验来调整。如转化的DNA总量较多, 可取更少量转化产物涂布平板; 反之, 如转化的DNA总量较少, 可取200-300 μ l转化产物涂布平板。如果预计的克隆较少, 可通过离心(4000 rpm, 2 min)后吸除部分培养液, 悬浮菌体后将其涂布于一个平板中。(涂布剩余的菌液可置于4°C保存, 如果次日的转化菌落数过少可以将剩下的菌液再涂布新的培养板)

注意事项

- 感受态细胞应保存在-70°C, 不可冻融和放置时间过长, 以避免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
- 为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接反应液, 以重新转化, 将损失降到最低。