

# TOP10 Competent *E. coli*

## TOP10感受态细胞

目录号: CB104

储存条件: -90~-65°C冻存半年, 避免反复冻融

产品内容:

| 产品组成   | CB104-01  | CB104-02  |
|--|-----------|-----------|
| TOP10  | 10×100 μl | 20×100 μl |
| Compcell Control<br>Plasmid pUC19<br>(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， $-90\sim-65^{\circ}\text{C}$ 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*  $\Delta$ (*mrr-hsd RMS-mcr* BC)  
 $\phi 80$ , *lacZ* $\Delta$ M15,  $\Delta$ *lac* X74, *recA1*  
*ara* $\Delta$ 139  $\Delta$ (*ara-leu*) 7697, *galU*  
*galK*, *rps,L* (*Str*<sup>r</sup>) *endA1*, *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 $\phi 80$ , *lacZ* $\Delta$ M15基因的产物可与pUC载体编码的 $\beta$ -半乳糖苷酶氨基端实现 $\alpha$ 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  $\mu\text{l}$ ，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  $\mu\text{l}$ 感受态细胞为例。

2. 向感受态细胞悬液中加入目的DNA(100  $\mu\text{l}$ 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，可延长时间至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  $\mu\text{l}$ 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  $\mu\text{l}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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  $\mu\text{l}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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

1. 感受态细胞应保存在-90~-65 $^{\circ}\text{C}$ ，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。
2. 进行转化操作时，应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
3. 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。