



# TOP10 Chemically Competent Cells

## TOP10 化学感受态细胞

版本号: V220101

货号: S102

保存: -80°C

运输: 干冰

货号	规格
S102-02	100 µl x 10

### 【产品概述】

*E. coli* TOP10 菌株是一种常用于质粒克隆的菌株，其基因型为  $F^- mcrA \Delta(mrr-hsdRMS-mcrBC) \phi 80, lacZ\Delta M15 \Delta lacX74 recA1 ara\Delta 139\Delta(ara-leu)7697 galU galk rps,L(Str^r) endA1 nupG$ 。  $\phi 80/lacZ\Delta M15$  基因的产物可通过与 pUC 载体编码的  $\beta$ -半乳糖苷酶氨基端  $\alpha$  互补，实现蓝白斑筛选。*recA1* 和 *endA1* 的突变有利于克隆 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。本产品是经特殊工艺处理得到的 TOP10 化学感受态细胞，使用 pUC19 质粒检测，转化效率可高达  $10^8$  cfu/µg DNA。

### 【产品组分】

货号	S102-02
TOP10 Chemically Competent Cells	100 µl x 10

### 【保存条件】

-80°C 保存，避免反复冻融，保质期 6 个月；干冰运输。

### 【使用方法】

按照无菌操作规程进行下列操作步骤：

- 取感受态细胞置于冰浴中融化，待完全化冻后轻轻混匀。如需分装，可将融化的细胞悬液转移到无菌、预冷的离心管中，置于冰浴中备用。混匀、分装时动作应轻缓，以防细胞破裂。
- 向 50-100 µl 细胞悬液中加入目的 DNA，轻轻混匀，冰浴中放置 30 min。  
注：加入 DNA 的体积以不超过感受态细胞体积的十分之一为宜。
- 将离心管转移至 42°C 水浴中热激 60-90 s，然后快速将离心管转移到冰浴中冷却 2-3 min。该过程不要摇动离心管。
- 向离心管中加入 500 µl 无菌的 SOC 或 LB 培养基（不含抗生素），混匀后置于 37°C，180 rpm 左右振荡培养 45-60 min，使菌体复苏并表达质粒上的抗生素抗性基因。
- 根据实验要求，取适量转化后的菌液加到含相应抗生素的 LB 固体琼脂培养基上，将细胞均匀涂开。待液体被完全吸收后，37°C 倒置培养约 12-16 h。

注意：涂布量的选择应根据目的 DNA 的性质和浓度适当进行调整，通常可按下述方法涂布：

- 目的质粒 DNA 在 1 ng 左右时， $\phi 90$  mm 平皿可涂布 100 µl， $\phi 55$  mm 平皿可涂布 50 µl；目的质粒浓度较高时，应相应减少涂布量。
- 连接产物的转化菌液可通过 4,000 rpm 离心 1-2 min 后，吸除大部分上清，用剩余的 100-200 µl 上清重悬菌体，涂布于同一块琼脂平板上。

### 【注意事项】

- 融化后的感受态细胞应及时进行转化，以免降低转化效率；融化后不宜再次冻结保存。
- 整个操作过程要轻柔，避免移液枪吹吸。
- 请使用传热性能好的薄壁试管或离心管，换用不同的试管或离心管时，应摸索热激时间，以获得最佳转化效率。
- 请保留剩余的连接反应液，以便在转化实验不成功时重新进行转化。
- 经验表明，使用 SOC 培养基复苏比使用 LB 培养基复苏的转化效率高约一倍以上。

### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。