



TOP10 Chemically Competent Cell

● 产品规格

货号: KTSM103L

规格: 100 μ L/支

pUC19(control vector, 100 pg/ μ L): 5 μ L

保存条件: -80°C

有效期: 6 个月

运输: 干冰运输

● 基因型

F⁻, mcrA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) ϕ 80lacZ Δ M15 Δ lacX74 nupG recA1
araD139 Δ (ara-leu)7697 galE15 galK16 rpsL(Str³) endA1 λ ⁻

● 产品说明

TOP10 菌株是目前实验室最常用的感受态细胞之一, Top10 生长速度快, 10 小时可见克隆, recA1 和 endA1 的突变有利于插入 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。可用于构建克隆, 蓝白斑筛选等实验, 具有链霉素抗性。Top10 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率达 10⁸ cfu/ μ g DNA。

● 操作方法

一、热激转化法

1. 从 -80°C 冰箱取出感受态细菌冰浴融化后, 吸取 100 μ L, 加入目的质粒或连接产物, 轻轻混匀, 冰浴 30 分钟。
2. 42°C 水浴热激 60 秒, 迅速放回冰中并静置 2 分钟, 该过程不要摇动摇菌管。
3. 向摇菌管中加入 900 μ L 37°C 温浴的 SOC 或 LB(SOC 培养基可提高 2-3 倍转化效率), 37°C、180 rpm、45 分钟复苏菌种。
4. 根据实验要求 (质粒、重组连接产物转化), 吸取不同体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 LB 琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。将平板置于 37°C 至液体被吸收, 倒置平板, 37°C 过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作, 将平板放 37°C 培养至少 15 小时。

二、10 分钟快速转化法



注: 在使用卡那霉素, 四环素等作为筛选抗性时, 需要在 SOC 培养基中复苏以提高转化效率, 当使用氨苄青霉素作为筛选抗性时, 该步骤可以省略。感受态细胞-DNA 混合物在冰上孵育 5-10 分钟后加入 4 倍体积的 37°C 温浴的 SOC 培养基, 在 37°C 180 rpm 孵育 1 小时, 然后转移到 37°C 预热的 LB 培养基上。

1. 提前 15 分钟将用到的筛选培养基平板拿到 37°C 预热。
2. TOP10 感受态细胞从 -80°C 拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀, 冰中静置 5 分钟。
3. 用 200 μ L 枪将感受态细胞-DNA 混合物转移到已经 37°C 预热的 LB 培养基上, 涂均匀, 表面无水渍。
4. 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作, 将平板放 37°C 培养至少 15 小时。

● 注意事项

1. 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。
2. 避免反复化冻。
3. 避免移液枪吹吸。
4. 整个操作过程要轻柔。
5. 重组产物不建议用 10 分钟快速转化法。

声明: 本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为 食品、化妆品或家庭用品等。