



Top10感受态细胞

●产品概述：

本产品是大肠杆菌 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。TOP10 是一种常用于质粒克隆的菌株，其 $\phi 80lacZ\Delta M15$ 基因产物可与载体编码的 β -半乳糖苷酶氨基端实现 α 互补，可用于蓝白斑筛选。使用 pUC19 质粒检测，转化效率可达 10^8 ，适用于高效的质粒 DNA 克隆并能保证高拷贝质粒的稳定复制。

基因型： *F-,mcrA Δ(mrr-hsd RMS-mcr BC)φ80,lacZΔM15,Δlac X74, recA1 araD139 Δ(ara-leu) 7697, galUgalK, rps,L (Strr) endA1, nupG*

●产品特点：

- 质量稳定，使用方便，质优价廉

●使用说明：

1、取感受态细胞置于冰浴中。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；

以下实验以 100 μ l 感受态细胞为例。

2、待感受态细胞融化后，向感受态细胞悬液中加入目的 DNA（根据实际情况加入适量的 DNA，通常 100 μ l 感受态细胞能够被 1 ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和），用移液器轻轻吹打混匀，冰浴 30 分钟；

3、42 $^{\circ}$ C 热击 45 秒，迅速将离心管转移到冰浴中，冰上静置 2~3 分钟，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，时间不需要十分准确，夏季或室温较高时，可放置 5~8min 左右。如果室温较低，可延长时间至 8~15min 左右。条件允许建议使用 42 $^{\circ}$ C 热激方法。

4、向每个离心管中加入 900 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基（不含抗生素），混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 摇床，150rpm 振荡培养 45 分钟使菌体复苏；（使质粒上相关的抗性标记基因表达，使菌体复苏）

注：如果抗性为卡那霉素，氯霉素抗性，链霉素抗性，建议复苏时间延长至 60 分钟。

5、取 100 μ l 已转化的感受态细胞，加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上，用无菌的涂布棒将细胞均匀涂开，直至干燥，倒置平板，37 $^{\circ}$ C 培养 12~16 小时。

●注意事项：

1、涂布用量可根据具体实验调整。若转化的 DNA 总量较多，可取少量转化产物涂布平板；若转化的 DNA 总量较少，可取 200~300 μ l 转化产物涂布平板。若预计的克隆数较少，可通过离心（4,000 rpm，2



分钟) 后吸除部分培养液, 悬浮菌体后将其涂布于平板中。

2、新制备的固体培养基不易涂干, 可将平板正置于37℃直至液体被吸收后再倒置培养。

3、涂布剩余的菌液可置于4℃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培养基进行培养。

4、转化所有步骤均在无菌条件下操作。

5、感受态细胞应在-80℃下保存, 不可多次冻融和放置时间过长, 以免降低感受态细胞的转化效率。

6、包装中有 0.1ng/μl 的 pUC19DNA, 供对照试验使用。

●包装规格及保存条件:

制品内容	货号	规格	保存条件
Top10 感受态细胞	58.013	100 μl*6	-80℃
Control DNA pUC19, 0.1 ng/μl		10μl	-80℃