

AipCell TOP10 感受态细胞

AipCell TOP10 Competent Cell

使用说明书

货号：CC201

产品组成：

组成	CC201-01	CC201-02
TOP10	10 支×100μL	20 支×100μL

产品储存：-70°C保存，避免反复冻融，一年有效。

产品介绍：

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 ，-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 菌株的基因型为：F⁻ mcrA Δ(mrr-hsdRMS-mcrBC) φ80 lacZΔM15Δ lacX74 recA1 araΔ139Δ(ara-leu)7697 galU galK rpsL(Star^r) endA1 nupG

产品特点：一种用于铺制与培养质粒平板和粘粒平板的重级缺陷的抑制型株。其 φ80 lacZΔM15 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：

提示：

- ⇒ 感受态细胞应保存在-70°C，不可多次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。
- ⇒ 感受态细胞融化后做短暂离心，可得到最大体积的感受态细胞。

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：一次转化感受态细胞的建议用量为 50 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(50 μ L 的感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和)，轻轻旋转离心管以混匀内容物，在冰浴中静置 30 分钟。
3. 将离心管置于 42 $^{\circ}$ C 水浴中放置 60-90 秒，然后快速将管转移到冰浴中，使细胞冷却 2-3 分钟，该过程不要摇动离心管。

注：(可选)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 分钟左右；如果室温较低，可延长至 8-15 分钟左右。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 500 μ L 无菌的 SOC 或 LB 培养基(不含抗生素)，混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 150rpm，摇床振荡培养 45 分钟，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 $^{\circ}$ C 培养 12-16 小时。

注：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(4000rpm，2 分钟)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 $^{\circ}$ 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)。

=====

