

TOP 10 感受态细胞



北京艾德莱生物科技有限公司
Aidlab Biotechnologies Co., Ltd

地址：北京市海淀区上地紫成创业园 C126--130

电话：010-82796972/82795296 (Fax)

网址：www.aidlab.cn 邮箱：info@aidlab.cn

使用说明书

目录号：CC01

产品编号	包装
CC0101	5次
CC0102	10次
CC0103	20次

❖ 产品组成、储存、稳定性：

组成	5次	10次	20次
TOP10	5×100μl	10×100μl	20×100μl
pUC19, 0.1ng/μl	5μl	5μl	5μl

储存：-70℃ 保存，避免反复冻融

❖ 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℃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℃，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。
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。

(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，可延长时间至 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。

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）。