

产品简介

TOP10 来源于 MC1061 菌株,是目前实验室最常用的感受态细胞之一,基因型与 DH10B 高度类似 (DH10B 为 galE15 型,而 TOP10 为 galU 型)。TOP10 生长速度快 (比 DH5 α 快,但比 Mach1-T1 生长速度慢),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。TOP10 感受态细胞经特殊工艺制作,pUC19 质粒 (2686bp, AmpR) 检测转化效率 $>5 \times 10^8$ cfu/ μ g DNA。

产品组成

组分	CC401	转化效率
TOP10 Chemically Competent Cell	100 μ l	5×10^8 cfu/ μ g

储存条件

本产品应置于 -80 $^{\circ}$ C 储存,勿置于 -20 $^{\circ}$ C 或液氮中保存

质量控制

- ❖ 无外源质粒 DNA 残留。
- ❖ 转化效率超过 5×10^8 cfu/ μ g pUC19 DNA

实验方案

1. TOP10 感受态细胞从 -80 $^{\circ}$ C 拿出,迅速插入冰中,5 min 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 (避免用枪吸打),冰中静置 25 min。
2. 42 $^{\circ}$ C 水浴热激 45 sec,迅速放回冰上并静置 2 min,晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μ l 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB),混匀后 37 $^{\circ}$ C,200 rpm 复苏 60 min。
4. 5000 rpm 离心 1 min 收菌,留取 100 μ l 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37 $^{\circ}$ C 培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作,将平板放 37 $^{\circ}$ C 培养至少 13 h。

注意事项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化，插入冰中 8 min 内加入目标 DNA，不可在冰中放置时间过长，长时间存放会降低转化效率。
2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作。
3. 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。

附录

1、常用抗生素浓度

抗生素	工作浓度
Ampicillin	100 µg/ml
Carbenicillin	100 µg/ml
Chloramphenicol	33 µg/ml
Kanamycin	30 µg/ml
Streptomycin	25 µg/ml
Tetracycline	15 µg/ml

2、DNA 中的转化抑制物及去除方式

转化抑制物	去除方式
Detergents	乙醇去除
Phenol	氯仿抽提及乙醇沉淀
Ethanol or Isopropanol	DNA 溶解前彻底晾干
PEG	柱式纯化或酚氯仿抽提及乙醇沉淀
DNA binding proteins	柱式纯化或酚氯仿抽提及乙醇沉淀