

TOP10 Chemically Competent Cell

#CS02010	10×100ul
# CS02020	20×100ul

贮存 -80°C 6 个月

概述： TOP10 化学转化感受态细胞是一种常用于质粒克隆的菌株，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。其 $\phi 80\text{lacZ}\Delta\text{M15}$ 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 cfu/ μg DNA。

基因型：

F- mcrA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) $\phi 80$ lacZ Δ M15, Δ lac X 74 recA1 ara Δ 139 Δ (ara-leu) 7697 galU galK rps (Strr)endA1 nupG

操作方法

- 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）并用枪轻轻吹打混匀，冰中静置 25 分钟。
- 42°C 水浴热激 90 秒，迅速放回冰上并静置 5 分钟。
- 向离心管中加入 500 μL 不含抗生素的无菌培养基 (SOC 或 LB 培养基)，混匀后 37°C，200rpm 复苏 60 分钟。
- 3000rpm 瞬时离心收菌，留取 100 μL 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含所选质粒筛选抗生素的 LB 培养基上。
- 待平板正置培养 30min 后，再将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。

注意事项

- 感受态细胞最好在冰中缓慢融化，不可在冰中放置时间过长，长时间存放会降低转化效率。
- 混入质粒时应轻柔操作。
- 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。