

M5 TOP10 Competent Cell 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 TOP10 Competent Cell	100 μ l \times 10 支	MF039-10
M5 TOP10 Competent Cell	100 μ l \times 20 支	MF039-20

【储存条件】

-80°C 恒温保存，避免反复冻融，有效期六个月；干冰运输。

【产品简介】

TOP10 大肠杆菌菌株是一种常用于质粒克隆的菌株，其基因型为 *F- mcrA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) ϕ 80 lacZ Δ M15 Δ lacX74 recA1 ara Δ 139 Δ (ara-leu)7697 galU galK rpsL(StrR) endA1 nupG. ϕ 80 lacZ Δ M15* 基因的产物可通过与 pUC 载体编码的 b-半乳糖苷酶氨基端 α 互补，实现蓝白斑筛选。*recA1* 和 *endA1* 的突变有利于克隆 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。本产品是经特殊工艺处理得到的 TOP10 化学感受态细胞，使用 pUC19 质粒检测，转化效率可高达 10⁸ cfu/ μ g DNA 以上。

【产品组份】

M5 TOP10 Competent Cell, pUC19 (0.1 ng/ μ l)。

【使用方法】

按照无菌操作规程进行下列操作步骤：

1. 取感受态细胞置于冰浴中融化，待完全化冻后轻轻混匀。如需分装，可将融化的细胞悬液转移到无菌、预冷的离心管中，置于冰浴中备用。混匀、分装时动作应轻缓，以防细胞破裂。
2. 向 50~100 μ l 细胞悬液中加入目的 DNA，轻轻混匀，冰浴中放置 30 分钟。
注意：加入 DNA 的体积以不超过感受态细胞体积的十分之一为宜。
3. 将离心管转移至 42°C 水浴中热激 60~90 秒，然后快速将离心管转移到冰浴中冷却 2 分钟。该过程不要摇动离心管。
4. 向离心管中加入 500~900 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基(不含抗生素)，混匀后置于 37°C 200 rpm 左右振荡培养 45~60 分钟，使菌体复苏并表达质粒上的抗生素抗性基因。
5. 根据实验要求，取适量转化后的菌液加到含相应抗生素的 LB 固体琼脂培养基上，将细胞均匀涂开。待液体被完全吸收后，37°C 倒置培养约 16 小时。

注意：涂布量的选择应根据目的 DNA 的性质和浓度适当进行调整，通常可按下述方法涂布：

- a. 目的质粒 DNA 在 1 ng 左右时， ϕ 90 mm 平皿可涂布 100 μ l， ϕ 55 mm 平皿可涂布 50 μ l；目的质粒浓度较高时，应相应减少涂布量。
- b. 连接产物的转化菌液可通过 4,000rpm 离心 1~2 分钟后，吸除大部分上清，用剩余的 100~200 μ l 上清重悬菌体，涂布于同一块琼脂平板上。

【注意事项】

1. 融化后的感受态细胞应及时进行转化，以免降低转化效率；融化后不宜再次冻结保存。
2. 整个操作过程要轻柔，避免移液枪吹吸。
3. 请使用传热性能好的薄壁试管或离心管，换用不同的试管或离心管时，应摸索热激时间，以获得最佳转化效率。
4. 请保留剩余的连接反应液，以便在转化实验不成功时重新进行转化。
5. 经验表明，使用 SOC 培养基复苏比使用 LB 培养基复苏的转化效率高约一倍以上。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。