



TOP10 感受态细胞

TOP10 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC104

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC104-1	TOP10感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC104-2	TOP10感受态细胞	20×100μl
<input type="checkbox"/> ZC104-3	TOP10感受态细胞	100×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl) 5μl (质量控制用)。

储存: -70°C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 TOP10 感受态细胞是采用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, 转化效率高达 10^9 cfu/μg DNA 以上。细胞具有硫酸链霉素 (Str^R) 抗性。

基因型为: F⁻ mcrAΔ(mrr-hsdRMS-mcrBC)φ80 lacZΔM15 ΔlacX74 recA1 araΔ139Δ(ara-leu)7697 galU galK rps L(str^r)endA1 nupG

产品特点:

- 可用于蓝白斑筛选;
- 适用于高效的 DNA 克隆和质粒扩增, 能保证高拷贝质粒的稳定复制。

操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:**取感受态细胞置于冰浴中(解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置 30 分钟。
注意:所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:**将离心管置于 42°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。
- **复苏:**向每个离心管中加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37°C 180rpm 摇床振荡培养 45-60 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。
- **涂板:**根据实验要求 (质粒, 重组连接产物转化), 吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 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°C 培养 12-16 小时。

提示:

- 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下, 半小时内活性无明显变化, 因此, 同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70°C, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 请在无菌条件下, 根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸, 整个过程要轻柔, 尽量低温操作。
- 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。



感受态快速转化方案：

3min 质粒快速转化方案 (适用范围: Amp 抗性质粒)

1. 取感受态细胞置于冰浴中 (解冻 1-2 分钟), 加入目的质粒, 轻轻混匀, 在冰浴中放置 1 分钟。
2. 吸取全部感受态细胞加到含 Amp 抗生素的 LB 固体琼脂培养基上, 将感受态均匀涂开。
3. 倒置平板, 37°C 培养 12-16 小时。

10min 快速转化方案 (适用范围: 本公司所有即用型克隆载体)

1. 取感受态细胞置于冰浴中 (解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA (质粒或连接产物), 轻轻混匀, 在冰浴中放置 5 分钟。
2. 将离心管置于 42°C 水浴中放置 60 秒, 然后快速将离心管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
3. 吸取全部感受态细胞加到含 Amp 抗生素的 LB 固体琼脂培养基上, 将感受态均匀涂开。
4. 倒置平板, 37°C 培养 12-16 小时。

★ 25min 快速转化方案 (通用)

1. 取感受态细胞置于冰浴中 (解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA (质粒或连接产物), 轻轻混匀, 在冰浴中放置 5 分钟^①。
2. 将离心管置于 42°C 水浴中放置 60 秒, 然后快速将离心管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
3. 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°C 180rpm 摇床振荡培养 15 分钟^②。
4. 吸取部分感受态细胞加到含对应抗生素的 LB 固体琼脂培养基上, 将感受态均匀涂开。
5. 倒置平板, 37°C 培养 12-16 小时。

注:

- ① 此步骤冰浴 5 分钟, 即可达到冰浴 30 分钟 80% 的转化效率;
- ② 连接产物为 Amp 抗性时, 复苏时间为 15 分钟时, 即可达到复苏 60 分钟 50% 的转化效率; 连接产物为 Kan 或其他抗性时, 建议至少复苏 30min 以上; 如需要提高转化效率, 建议延长复苏时间, 每延长 10min, 即可提高 2 倍以上的转化效率。