



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 010-58437227 82598075

Fax: 010-82597807

http:// www.real-times.com.cn

E-mail: real-times@163.com

Top10 化学感受态细胞

目录号: RTX303

储存条件: -70℃冻存六个月

产品包装:

货号	RTX303-03
Top10	20×100 μl
Competent cell Control Plasmid pUC18 (1 ng/μl)	10μl

产品简介:

本公司生产的 Top10 感受态细胞采用经特殊工艺处理得到, 可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC18 质粒检测, 转化效率可达 10^8 cfu/μg, -70℃保存几个月转化效率不发生改变。

Top10 菌株介绍:

基因型: F- *mcrA* Δ(*mrr-hsdRMS-mcrBC*) φ80 *lacZ*ΔM15Δ*lacX* 74 *recA1* *deoR* *araD139*Δ(*ara-leu*) 7697 *galU galK rpsL* (StrR) *endA1 nupG*

特点: 一种用于铺制与培养质粒平板和粘粒平板的重组缺陷的抑制型菌株。其φ80 *lacZ*ΔM15 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。

操作方法: (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 50-100 μl, 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 μl 感受态细胞为例。
- 2 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA (50 μl 的感受态细胞能够被 1 ng 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℃水浴中放置 45 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。
- 4 向每个离心管中加入 500 μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37℃摇床振荡培养 45 分钟 (150 转/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 μl 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℃培养 12-16 小时。

注: 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 μl 转化产物涂布平板。如果预计的克隆较少, 可通过离心 (4,000 rpm, 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℃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)

注意事项:

注: 本制品仅供科研用。请勿用于人体及动物的医疗、临床诊断或作为食品、化妆品、家庭用品的添加剂等用途。
中科瑞泰(北京)生物科技有限公司 电话:400-699-0631 E-mail:real-times@vip.163.com <http://www.real-times.com.cn>

1. 感受态细胞应保存在 -70°C ，不可多次冻融和放置时间过长，以避免感受态细胞的转化效率。
2. 进行转化操作时，应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
3. 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。