

产品说明书

产品名称: TOP10 感受态细胞

产品货号: XK005

产品组分

组分	XK005-01	XK005-02
TOP10 Chemically Competent Cell	10×100μl	100×100μl
pUC19 (Control Vector)	5 μL(0.1ng/μL)	5 μL(0.1ng/μL)

基因型

F-mcrAΔ(mrr-hsdRMS-mcrBC)φ80lacZΔM15ΔlacX74recA1araΔ139Δ(ara-leu)7697galUgalKrpS L(strR)endA1nupG

储存条件

-80℃保存 6 个月，避免反复冻融。

产品简介

TOP10 感受态细胞是目前最常用的感受态细胞，生长速度快，转化效率高，recA1 和 endA1 的突变有利于 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。本公司生产的 TOP10 感受态细胞是采用大肠杆菌 TOP10 菌株经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，转化效率可达 10^8 cfu/μg，-70℃保存几个月转化效率不发生改变。每支感受态可以酌情分装使用，降低了实验的成本。质量稳定，使用方便，质优价廉。

产品特点

- ✓ 转化效率高，使用 pUC19 质粒检测，转化效率，可达 10^8 cfu/μg;
- ✓ TOP10 中 φ80lacZΔM15 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。
- ✓ 细胞具有链霉素抗性。
- ✓ 感受态细胞支持快速转化流程。

注意事项

1. 感受态细胞应保存在 -80℃，不可多次冻融和放置时间过长，以避免降低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，实验操作轻柔。
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。
4. 感受态细胞应插入冰上缓慢融化（请勿用手握化）后立即加入目的 DNA，此时转化效率最高（感受态细胞融化后长时间置于冰上不加目的 DNA 会降低转化效率）。
5. 目的 DNA 不能超过感受态总体积的 1/10。



操作步骤

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，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°C 水浴中放置 60 秒钟，然后快速将管转移到冰浴中，使细胞冷却 2 分钟，该过程不要摇动离心管。（此步骤也可将离心管置于室温进行，时间不需十分准确，夏季或室温较高时，可放置 5-8 分钟左右；如果室温较低，可延长时间至 8-15 分钟左右。条件允许建议使用 42°C 热激方法。）
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°C，150 rpm，摇床振荡培养 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。
5. 无菌条件下，取适量菌液加到含相应抗生素的 LB 固体培养基平板上，用无菌的细菌涂布器或玻璃珠将细胞均匀涂开。等平板中的液体完全吸收后，倒置平板，37°C 培养 12-16 小时。（涂布用量可根据具体实验来调整。转化质粒在 10 ng 左右，90 mm 平皿涂布 100 μl ，55 mm 平皿涂布 50 μl ；连接产物的转化菌液建议离心后倒掉大部分上清，余 200 μl ，取 100 μl 用于涂布。）
6. 保留剩余的菌液于 4°C 冰箱中，视平板上菌落生长情况决定去留。

（**质粒快速转化步骤**：将步骤 2 的时间缩短到 5 分钟，对于氨苄青霉素抗性的质粒，步骤 3 完成后，可直接涂布或划线于含氨苄青霉素抗性的 LB 平板上。其它抗性的质粒仍需 60 分钟的复苏培养。）

常见问题与解决办法

Q1：转化后平板不长菌或长菌数较少？

- (1) 上游连接效率较低。建议检查上游插入片段质量、连接比例、反应温度及时间是否合适；
- (2) 感受态细胞失效或效率降低。使用新鲜感受态细胞，感受态请勿反复冻融，建议使用本产品中附带 pUC19 质粒做一组阳性对照实验；
- (3) 抗生素存在问题。检查抗生素是否失效，抗生素种类、用量是否正确，建议重新配制平板重复实验。

Q2：转化后平板出现卫星菌落或杂菌？

- (1) 抗生素存在问题。检查抗生素是否失效，用量是否正确，氨苄抗性可适当提高抗生素浓度；
- (2) 培养温度或时间不合适。检查培养箱温度，37°C 培养时间不宜过长；
- (3) 存在污染。感受态细胞在操作过程中被污染，建议做一组阴性对照实验（不加 DNA 只转化空感受态于抗性平板）检查操作过程是否污染了相同抗性的菌株。若存在污染，建议更换试剂及耗材，可使用核酸清洁剂对实验台面、环境进行清洁。

