

F-TOP10 快速转化感受态细胞产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DF1010)

F-TOP10 Competent Cell	100μl /支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件 (保质期):	-80°C (6个月)

● 基因型

F- *mcrA* Δ(*mrr-hsdRMS-mcrBC*) φ80 *lacZ*Δ*M15* Δ*lacX74* *recA1* *ara*Δ139 Δ(*ara-leu*)7697 *galU* *galK* *rpsL* (Str^R) *endA1* *nupG*

● 产品说明

TOP10 菌株来源于 MC1061, 是目前实验室最常用的感受态细胞之一, 基因型与 DH10B 高度类似 (DH10B 为 *gaE15* 型, 而 TOP10 为 *galU* 型)。TOP10 生长速度快, 37°C, 10 小时可见克隆。*recA1* 和 *endA1* 的突变有利于插入 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。可用于构建克隆, 蓝白斑筛选等实验。F-TOP10 感受态细胞经特殊工艺制作, 无需 42°C 热激, 37°C 孵育步骤, 只需冰浴, 10min 内完成转化、涂板操作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 >2×10⁸ cfu/μg DNA。

● 快速转化操作方法 (10min)

1. 提前 15 分钟将用到的筛选培养基平板拿到 37°C 预热。
2. F-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) 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀, 冰中静置 ≥5 分钟。
3. 用 200ul 枪将感受态细胞-DNA 混合物转移到已经 37°C 预热的 LB 培养基上, 涂均匀, 表面无水渍。
4. 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作, 将平板放 37°C 培养至少 15h。

● 快速热激转化操作方法 (25min, 可提高转化效率)

1. F-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) 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀, 冰中静置 5 分钟。
2. 42°C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰上并静置 2 分钟 (晃动会降低转化效率)。加入 700 μl 不含抗生素的 LB, 37°C, 200 rpm 复苏 10 分钟, 涂板 (均匀, 表面无水渍)。
3. 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作, 将平板放 37°C 培养至少 15h。

● 注意事项

1. F-TOP10 快速转化感受态细胞也可进行热激操作, 对于 >7 kb 质粒的构建, 为了提高转化效率可按以下步骤操作: F-TOP10 感受态细胞从 -80°C 拿出, 插入冰中, 5 分钟后, 加入目的 DNA 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀, 冰中静置 20 分钟。42°C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰中静置 2 分钟。加入 700 μl LB, 37°C, 200 rpm 复苏 30 分钟, 涂板。
2. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化。插入冰中 8 分钟内加入目标 DNA, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率, 混入目的 DNA 时应轻柔操作。
3. F-TOP10 快速转化感受态细胞涂氨苄/羧苄青霉素抗性平板时效率较高, 若涂卡那霉素或其他抗生素平板, 转化效率下降 (因无孵育步骤, 卡那霉素等对菌体毒性较大)。若要提高卡那霉素或其他抗性质粒的转化效率, 可增加孵育步骤。