

### TOP10F<sup>-</sup> Chemically Competent Cell 产品说明书

#### ● 产品规格 (CAT#: DL1011)

TOP10F <sup>-</sup> 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<sup>-</sup> {*lacI<sup>q</sup> Tn10 (Tet<sup>R</sup>)*} *mcrA* Δ(*mrr-hsdRMS-mcrBC*) Φ80*lacZ*ΔM15 Δ*lacX74 recA1 araD139* Δ(*ara-leu*)7697  
*galU galK rpsL endA1 nupG*

#### ● 产品说明

TOP10F<sup>-</sup> 来源于 TOP10 菌株。将 F<sup>-</sup> {*lacI<sup>q</sup> Tn10 (Tet<sup>R</sup>)*} 因子转入 TOP10 菌株, 即为 TOP10F<sup>-</sup>。该 F<sup>-</sup> 因子携带 *lacI<sup>q</sup>* 抑制子, 可抑制 *trc*, *tac*, *lac* 等启动子下游基因的表达, 从而可以用于一些表达毒性蛋白质粒的扩繁。*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, 蓝白斑筛选实验 (如用于蓝白斑筛选, 需在培养基中加入 IPTG 诱导 β-半乳糖苷酶基因的表达), 具有四环素抗性。TOP10F<sup>-</sup> 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp<sup>R</sup>) 检测转化效率 > 10<sup>8</sup> cfu/μg DNA。

#### ● 操作方法

1. TOP10F<sup>-</sup> 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 (避免用枪吸打), 冰中静置 25 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。
3. 向离心管中加入 700 μl 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB), 混匀后 37°C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收菌, 留取 100 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。
5. 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 13 h。

#### ● 注意事项

1. 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。
2. 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
3. 若要获得大量, 高纯度质粒, 建议在 TB 培养基 (唯地 CAT#: CM1018L) 中摇菌培养 (以标准质粒 PUC19 为例: 在 TB 营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为 LB 的 3-4 倍, SOC 的 2 倍)