

Top10 化学感受态

产品简介

TOP10菌株来源于 MC1061菌株，是目前实验室较常用的菌株之一，广泛用于基因克隆、蓝白筛选、质粒稳定扩增等分子生物学实验。其生长速度较快(比 DH5 α快，但比 Mach1-T1慢)，约 10小时可见克隆。其基因型与 DH10B高度类似 (DH10B为 galE15型，而 TOP10为 galU型)。其中 hsdR用于有效转化通过 PCR扩增获得的未甲基化 DNA；lacZ ΔM15的表达使 TOP10感受态可用于蓝、白斑筛选；recA1可减少插入片段的同源重组概率，保证了插入 DNA的稳定性；endA1的突变提高了质粒 DNA的产量和质量；Str^R使得该菌株具有链霉素抗性。经 pUC19质粒转化检测，转化效率可达 10⁸ cfu/μg DNA以上。

产品组成

组分	AO4102-01	AO4102-02	AO4102-C
Top10化学感受态	20 ×100 μL	100 ×100 μL	定制
基因型：F mcrA Δ(mrr-hsdRMS-mcrBC)φ80lacZ ΔM15 ΔlacX74recA1araD139 Δ(ara-leu)7697galU galK rpsL (Str ^R)endA1nupG			

存储条件

-80℃保存；请勿将本品置于-20℃或者液氮中保存！

使用方法

1. 解冻感受态细胞：从80℃取出感受态细胞，冰上融化约5-10 min，然后立即进行DNA样品的转化。
2. DNA样品的转化：每 100 μL感受态可加入 0.5-10 μL待转化 DNA样品（例如质粒、连接产物或重组产物等），然后轻轻弹击管底约 5-6次，立即冰上静置孵育 30 min。

待转化 DNA样品的加入体积不宜超过感受态细胞体积的 1/10。

加入待转化 DNA样品后应轻柔弹击混匀，避免使用移液枪剧烈吹打混匀。

用于质粒的转化时可将冰浴时间缩短至 5-10 min；用于连接产物或重组产物转化时，建议冰浴时间为 15-30 min以提高转化效率。

3. 热激处理：冰浴后，将装有感受态和 DNA样品的离心管快速置于 42℃水浴中，静置热激 90 s，随后立即转移至冰上静置 2-3 min以快速冷却。

热激时间需要精确控制在 45-90 s

热激及转移至冰浴过程中禁止晃动离心管。

4. 复苏培养：加入 900 μL 室温或 37℃预热的 LB培养基（或 SOC培养基等），上下颠倒数次混匀，然后将离心管倾斜放置在恒温摇床中，37℃ 220 rpm复苏培养 45 min。

37℃为常规复苏温度，若转入质粒对温度敏感或其它特殊情况需根据实验要求设置合适的温度。

Top10 化学感受态

含相应抗生素的 LB 平板上。

6. 过夜培养：将平板倒置放于 37℃ 培养箱培养过夜。

培养前需要将平板在超净台中稍微晾至无明显水渍，有利于形成单克隆。

37℃ 为常规培养温度，若转入质粒对温度敏感或其它特殊情况需根据实验要求设置合适的温度。

注意事项

1. 感受态细胞冰上解冻后应立即使用，融化时间过长可能会影响转化效率；
2. 为确保更高转化效率，整个操作过程中除热激外均要保持低温，并且要尽量轻柔。