

TOP10F`化学转化感受态使用说明

◇ 产品简介

本品为大肠杆菌 TOP10F` (基因型: $F' \{lacI^q Tn10 (Tet^R)\} mcrA \Delta (mrr-hsdRMS-mcrBC) \Phi 80lacZ \Delta M15 \Delta lacX74 recA1 araD139 \Delta (ara-leu)7697 galU galK rpsL endA1 nupG$) 制作的高效感受态, 来源于 TOP10 菌株。将 $F' \{lacI^q Tn10 (Tet^R)\}$ 因子转入 TOP10 菌株, 即为 TOP10F`。该 F` 因子携带 $lacI^q$ 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` 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 $>10^8$ cfu/ μ g DNA。

◇ 产品规格

| 品名 | 货号 | 规格 |
|----------------|----------|----------------|
| TOP10F`化学转化感受态 | EC031H-S | 10×100 μ L |
| | EC031H-M | 50×100 μ L |

保存条件: -80℃ (12 个月)

◇ 转化方法

1. 从 -80℃ 冰箱中取出感受态细胞, 放入冰中 5 min, 加入目的质粒或连接产物, 轻弹使混合均匀, 并在冰中孵育 30min;
2. 放 42℃ 水浴锅中热激 90 s, 立即插入冰中静置 2-3 min;
3. 添加 900 μ L LB 液体培养基, 37℃ 摇床 220 rpm 培养 60 min;
4. 离心 (质粒转化无需离心, 吸取 100 μ L 菌液涂布即可), 倒掉上清, 余下菌液均匀涂布抗性平板, 37℃ 培养箱放置过夜。

◇ 注意事项

1. 感受态细胞解冻后应立即使用, 不可在冰中放置过长时间。
2. 不能用移液器抽吸感受态细胞, 用手指轻弹混匀即可。
3. 质粒使用量 <50 ng 即可获得很好的转化。