

TOP10 Electro

TOP10 Electroporation-Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G27010

保存条件: -80℃

产品规格: 5×50μl 20×50μl

产品介绍

基 因 型

F- mcrA Δ(mrr-hsdRMS-mcrBC) ϕ 80 lacZ Δ M15 Δ lacX74 recA1 ara Δ
139 Δ (ara-leu)7697 galU galK rpsL (Strr) endA1 nupG

简 要 说 明

TOP10 电击感受态细胞只能用于电击转化，不能用于热激转化。-MLBio

TOP10 来源于 MC1061 菌株，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 galE15 型，而 TOP10 为 galU 型)。

TOP10 生长速度快 (比 DH5 α 快，但比 Mach1-T1 生长速度慢)，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，具有链霉素抗性。-MLBio

-MLBio-TOP10 电击感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率可达 1×10^{10} cfu/ μ g DNA。

操 作 说 明

1.0.1cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5 分钟，待其沥干水分，正置 5 分钟，使乙醇充分挥发，待乙醇挥发干净立即插入冰中，压实冰面，电极杯顶离冰面 0.5cm 以方便盖上杯盖，冰中静置 5 分钟充分降温。

2.2.取-80℃保存的 TOP10 电击感受态细胞插入冰中 5 分钟，待其融化，加入目的 DNA(质粒或连接产物)并用手拨打 EP 管底轻轻混匀，避免产生气泡，立即插入冰中。

A.测定转化效率使用 1 μ l 10 pg/ μ l 的对照质粒 pUC19;

B.对于连接产物，请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液 (10 mM Tris HCl, pH7.5; 1 mM EDTA)重悬，DNA 浓度不超过 100 ng/ μ l，体积不超过 5 μ l/50 μ l 感受态。

3.用 200 μ l 枪头(用刀切除 0.5cm 枪尖)将感受态-DNA 混合物快速移到电击杯中，避免产生气泡，盖上杯盖。

4.启动电转仪，设置参数：C=25 μ F，PC=200 Ω ，V=1.8 kV (此为 BioRad 电转仪推荐参数，也可按所用 电转仪推荐的参数操作)，将电击杯快速放入电转槽中，电击完成快速插入冰中。

5.立即 向电击杯中加入 1000 μ l 不含抗生素的无菌培养基 S.O.C.，混匀后转移到空 50ml 管中，并用 1ml SOC 轻柔冲洗电转杯并转移到 50ml 管中，另补加 3ml SOC 培养基， 37 $^{\circ}$ C，200 rpm 复苏 60 分钟。

6.5000 rpm 离心一分钟收菌，重悬后取 100-200 μ l 涂布到含相应抗生素的 S.O.C 平板上（因菌量较大，若全部涂板请选用直径 15cm 培养皿 2-5 个）。将平板倒置放于 37 $^{\circ}$ C 培养箱过夜培养 13-17 小时。

注 意 事 项

1. 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 电击感受态细胞加入电击杯应避免产生气泡，气泡会增加弧光放电风险。
3. 当 DNA 不纯或存在盐，乙醇，蛋白及缓冲液等污染时，转化效率急剧下降。
4. 电击杯里的离子可增加溶液的电导，增大在含有细胞和 DNA 的溶液中产生电流和弧光放电的风险。
5. 若转化大质粒或想获得较高转化效率，推荐使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒。质粒增大一倍，转化效率下降一个数量级。

6. 对于连接产物转化，最好转化前乙醇沉淀 DNA 后用适量 TE 缓冲液 (10 mM Tris HCl, pH7.5; 1 mM EDTA)重悬产物，保证 DNA 浓度不超过 100 ng/ μ l。过高浓度连接产物或过大体积连接产物会降低转化效率，增加弧光放电的风险。
7. 入质粒时应轻柔操作，吸取感受态细胞时避免用力过猛，以免剪切力过大损伤细胞膜，降低转化效率。转化高浓度的质粒或连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
8. 电击感受态细胞最好保存在-80℃以下，高于-80℃超期储存会导致转化效率会下降。