

## TOP10 感受态细胞说明书

### 01. 产品概述

TOP10 菌株适用于高效的 DNA 克隆与质粒扩增。其基因型中缺失核酸内切酶 (*endA1*)，有助于提升质粒 DNA 的产量与纯度；重组酶基因 (*recA1*) 发生突变，可有效降低插入片段发生同源重组的概率，从而维持外源 DNA 的稳定性；*hsdR* 突变使得该菌株能够高效转化经 PCR 扩增产生的未甲基化 DNA；*lacZΔM15* 基因的缺陷便于通过蓝白斑筛选进行重组克隆鉴定。此外，该菌株具备链霉素抗性。本产品采用优化的感受态细胞制备工艺，经 pUC19 质粒检测，其转化效率可达  $2 \times 10^9$  cfu/ $\mu$ g。

### 02. 基因型

F<sup>-</sup> *mcrAΔ(mrr-hsdRMS-mcrBC)* *φ80 lacZΔM15 ΔlacX74 recA1 araΔ139Δ(ara-leu)7697 galU galK rpsL (Str<sup>R</sup>) endA1 nupG*

### 03. 产品规格

组分	规格 1	规格 2
	(NG-CV0002-10×100 $\mu$ L)	(NG-CV0002-100×100 $\mu$ L)
TOP10 Competent Cells	10×100 $\mu$ L	100×100 $\mu$ L
pUC19 (control vector)	10 $\mu$ L(10 pg/ $\mu$ L)	10 $\mu$ L(10 pg/ $\mu$ L)

### 04. 产品特性

生长速度快，10 h 可见克隆。

转化效率高，转化效率  $> 10^9$  cfu/ $\mu$ g。

## 05. 操作方法

- 1、取出 100  $\mu$ L 感受态细胞，迅速插入冰中，待其自然融化，加入目的 DNA (质粒或连接产物)，轻轻混匀 (轻柔吹打或轻弹管壁数下)，冰上静置 30 min。
- 2、42°C 水浴热激 45 ~ 60 s，迅速转移至冰浴中，静置 2 min (冰上静置过程中请勿晃动样品，否则会降低转化效率)。
- 3、向离心管中加入 700  $\mu$ L LB 或 SOC (不含抗生素)，混匀后 37°C，200 rpm 复苏 1 h。
- 4、根据实验需要，取合适体积的复苏液均匀涂布到含相应抗生素 LB 固体培养基平板上，将平板倒置放于 37 °C 培养箱过夜培养。

## 06. 注意事项

- 1、感受态细胞冰水浴中解冻后应立即使用，长时间放置会降低转化效率。
- 2、待转化 DNA 加入体积不要超过感受态细胞体积的 1/10。
- 3、加入质粒或连接产物后，需轻柔混匀。
- 4、避免将感受态细胞反复冻融。
- 5、如转化高浓度质粒可以减少相应涂布的菌量，避免菌落过密。

## 07. 保存条件 (保质期)

-80°C (6 个月)，干冰运输。

## 08. 质控标准

- 1、使用 pUC19 质粒 DNA 进行转化时，每 100  $\mu$ L 的 TOP10 感受态细胞转化效率  $\geq 10^9$  cfu/ $\mu$ g。

2、100  $\mu$ L 的 TOP10 感受态细胞分别在含有 Amp、Kana 的 LB 固体培养基上过夜培养 40 h 不产生菌落。

NanokareBio  
纳克生物