



TOP10 化学感受态细胞

产品编号: MCC003

产品组成	规格	转化效率
TOP10 化学感受态细胞	10×0.1ml	$\geq 10^7$
pUC19 control plasmid(0.1ng/μl in TE)	10 μl	---

运输条件

感受态细胞使用干冰运输。请检查感受态是否为冻存状态，若不是请拒绝接收。

储存条件

感受态细胞必须在干冰运输后立即置于-80℃冻存，不能保存于液氮中。感受态细胞对温度变化非常敏感，即使是很小的温度变化（从一个冰箱到另一个冰箱的转移）都会使得其转化效率下降。

产品检测

以 100μl 的感受态细胞转化 0.1ng/μl pUC19 为阳性对照，以不加质粒的作为阴性对照，操作过程同下述转化步骤。转化后，以 50μl 的转化物涂板（含有 100μg/ml ampicillin）。37℃ 培养过夜，计算转化效率。

TOP10 菌株介绍

基因型: F⁻ , mcrAΔ(mrr-hsd RMS-mcrBC), φ80 , lacZΔM15, Δ lac X 74, recA1 , araΔ139Δ(ara-leu)7697, galU , galK , rps, (Strr) endA1, nupG

该菌株适用于高效的 DNA 克隆和质粒扩增，能保证高拷贝质粒的稳定遗传。

转化步骤: (请在无菌环境下操作)

- 1、取出置于-80℃的感受态细胞，置于冰上融化。如需分装，请使用预冷的灭菌离心管。
- 2、加入目的 DNA (阳性对照 pUC19 1μl, 阴性对照不加质粒)，轻轻混匀，静置于冰上 30min (100μl 感受态细胞最多可以加入 50ngDNA)。
- 3、将离心管放入 42℃的水浴中热激 90s。快速将离心管转移置冰上，让其冷却 2min。
- 4、加入 900ul 预热 (42℃) 的 LB 或 SOC 无抗生素的培养基，将其置于 37℃的摇床上，150r/min 震荡培养 45min-1h，使菌体复苏并表达质粒编码的抗生素抗性标记基因。
- 5、将≤200 μl 已转化的感受态细胞均匀涂布到含相应抗生素的 LB 平板上。将平板置于 37℃直至液体被吸收 (约 30min)，倒置平板，37℃培养 12-16h。



6、 计算转化率，可参照下列公式计算：

转化子总数=（菌落数×稀释倍数×转化反应原液总体积）/ 涂板菌液体积

转 化 率= 转化子总数 / 质粒 DNA 加入量（每 μg 超螺旋质粒 DNA）。

试剂和培养基的制备

SOB 培养基（1L） 20.0g tryptone 5.0g yeast extract 0.5g NaCl 加去离子水到 1L，高温高压灭菌。使用之前加入 10ml 的过滤灭菌的 1M MgCl_2 、10ml 过滤灭菌的 1M MgSO_4 。	SOC 培养基（100ml）使用前在 SOB 培养基中加入 1ml 过滤灭菌的 2M 的葡萄糖溶液
LB 固体培养基（1L） 10.0g NaCl 20.0g tryptone 5.0g yeast extract 20.0g agar 加去离子水到 1L，使用 5N NaOH 调 pH=7.0，高压灭菌。	LB-Ampicillin 固体培养基（1L） LB 固体培养基灭菌后置于超静台上，至温度为 55℃，加入 1ml 过滤灭菌的 50mg/ml Ampicillin

蓝白斑筛选的平板准备

如果质粒带有 α 互补，要预先在相应抗性的平板上加入 7 μl IPTG（20%， 0.8mol/L）、40 μl X-gal（2%， 20mg/ml），用涂布棒涂均匀，室温放置一小时以上，之后再将转化的感受态细胞涂平板。

注意事项

- 1、在收到感受态细胞时，请检查感受态是否为冻存状态，若不是请拒绝接收。
- 2、涂板的量视具体 DNA 浓度而定。如预计克隆数较少，请在涂板前，将复苏的菌体（4 步后）4,000rpm 离心 2min，然后吸取 200 μl 涂布在含有相应抗生素的平板。
- 3、做蓝白斑筛选实验，重组质粒转化后，应在 37℃ 培养至少 17h，之后置于 4℃ 冰箱内 2h，有利于蓝斑的显色。
- 4、阳性对照的转化效率可以达到 10^7 cfu/ μg pUC19 以上。对于实验的 DNA 来说，克隆的数量根据转化 DNA 的大小和形态不同而存在差异，通常分子量大的和非超螺旋的 DNA 的克隆比较少。
- 5、此产品仅供实验研究使用，请勿用于人及动物的临床医疗或者是食品添加剂等。