

GNM TOP10F'感受态细胞

# CCL14010	10×100ul
# CCL14020	20×100ul

贮存 -80℃

概述: TOP10F'菌株来源于 TOP10 菌株。将 F'[lacIq Tn10 (TetR)]因子转入 TOP10 菌株, 即为 TOP10F'。该 F'因子携带 lacIq 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 (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) 实验, 具有四环素抗性。TOP10F'感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率>10⁸ cfu/μg DNA。

基因型:

F'[lacIq Tn10(tetR)] mcrA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) φ 80lacZ Δ M15 Δ lacX74 deoR nupG recA1 araD139 Δ (ara-leu)7697 galU galK rpsL(StrR) endA1 λ-

操作方法

- 取 TOP10F'感受态细胞置于冰浴中, 如需分装可将刚融化细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中, 置于冰浴中。
- 向 TOP10F'感受态细胞悬液中加入目的 DNA (100μl 的感受态细胞能够被 1 ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和), 轻弹混匀, 在冰浴中静置 30 分钟。
- 将离心管置于 42 °C 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使 TOP10F'感受态细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- 向每个离心管中加入 500 μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37 °C 摇床振荡培养 45 分钟-60 分钟 (180 rpm), 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
- 根据实验需求, 取适量已转化的感受态细胞, 加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 用无菌的涂布棒将细胞均匀涂开, 将平板置于 37°C 直至液体被吸收, 倒置培养, 37°C 培养 12~16h。

注意事项

- 感受态细胞最好在冰中缓慢融化, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。
- 混入质粒时应轻柔操作。
- 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。

本产品仅供科研使用, 请勿用于临床诊断及商业用途。

