

# TOP10F' Chemically Competent Cell

#CL14010 10×100ul

# CL14020 20×100ul

贮存 -80°C

**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 $\beta$ -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 $>10^8$  cfu/ $\mu$ g DNA。

## 基因型:

F'[lacIq Tn10(tetR)] mcrA  $\Delta$  (mrr-hsdRMS-mcrBC)  $\phi$  80lacZ  $\Delta$  M15  $\Delta$  lacX74 deoR nupG recA1 araD139  $\Delta$  (ara-leu)7697 galU galK rpsL(StrR) endA1  $\lambda$ -

## 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 (100 $\mu$ l 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  $\mu$ l 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。