



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
订货热线: 400-1683301或800-8283301  
订货e-mail: order@beyotime.com  
技术咨询: info@beyotime.com  
网址: http://www.beyotime.com

## TOP10超级感受态细胞

产品编号	产品名称	包装
D1087S	TOP10超级感受态细胞	20×100μl
D1087M	TOP10超级感受态细胞	100×100μl

### 产品简介：

- 碧云天生产的TOP10超级感受态细胞，英文名TOP10 Super Competent Cells，是一种可以用于高效质粒DNA克隆并能保证高拷贝质粒稳定复制的*E. coli* TOP10即用型化学感受态细胞。使用pUC19质粒进行热激活转化，在严格按照使用说明进行操作时，转化效率可以达到 $1.0 \pm 0.5 \times 10^9$ cfu/ $\mu\text{g}$  DNA。
- TOP10菌株来源于MC1061菌株，是目前实验室最常用的菌株之一，广泛用于基因克隆、蓝白筛选、质粒稳定扩增等分子生物学实验。其生长速度较快(比DH5α快，但比Mach1-T1慢)，10小时可见克隆。
- TOP10表达Methyl coenzyme M reductase (*mcrA*)，当转化产物为真核细胞来源的、甲基化的DNA分子时，可优先考虑。
- TOP10菌株的基因型为F<sup>-</sup> *mcrA* Δ(*mrr-hsd RMS-mcrBC*) φ80 *lacZΔM15* Δ*lacX74* *recA1* *araΔ139* Δ(*ara-leu*)7697 *galU* *galK* *rpsL* (*Str*<sup>R</sup>) *endA1* *nupG*。该基因型与DH10B高度类似(DH10B为galE15型，而TOP10为galU型)。其中*hsdR*用于有效转化通过PCR扩增获得的未甲基化DNA；*lacZΔM15*的表达使TOP10感受态可用于蓝、白斑筛选；*recA1*可减少插入片段的同源重组概率，保证了插入DNA的稳定性；*endA1*的突变提高了质粒DNA的产量和质量[1, 2]；*Str*<sup>R</sup>使得该细胞具有硫酸链霉素抗性。

### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D1087S	TOP10超级感受态细胞	20×100μl
D1087M	TOP10超级感受态细胞	100×100μl
—	说明书	1份

### 保存条件：

-80°C保存，一年内有效。避免反复冻融，通常制备6个月后转化效率随保存时间延长而逐渐降低。

### 注意事项：

- 感受态细胞禁止反复冻融，并应尽可能避免冻融，反复冻融会导致转化效率大幅下降。
- 感受态细胞融化后，须尽快加入待转化样品，不宜在无转化产物的情况下放置时间超过10分钟或以上时间，以免降低感受态细胞的转化效率。
- 待转化样品的体积通常不宜超过感受态细胞体积的10%，样品体积过大将导致转化效率下降。
- 感受态细胞对于温度变化非常敏感，需要避免出现不应有的使用说明之外的温度变化。
- 感受态细胞对于机械力非常敏感。加入待转化样品时应轻柔操作，不能使用移液枪吹打混匀。
- 通常仅建议取部分样品用于转化，这样万一遇到转化失败的情况，还留有样品可以再次进行转化。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明：

1. **解冻感受态细胞。** 取感受态细胞放置冰浴或冰水浴中融化，通常需要5分钟以上的时间。解冻后须尽量在10分钟内使用，放置时间过长会影响转化效率。
2. **DNA样品的转化。** 取一管感受态细胞，加入DNA样品，例如质粒、连接产物或重组产物等，轻轻弹击管底约2-3次或轻轻晃动约2-3次以混匀，立即冰浴静置30分钟。注：所用DNA体积通常不宜超过感受态细胞体积的10%，混合时不得使用移液器进行吹打。如果用于质粒的转化扩增，冰浴静置约10分钟，后续可以直接涂板并培养过夜；如果用于连接产物或重组产物的转化，建议冰浴静置30分钟并严格执行后续的热激处理和复苏培养等步骤，以提高转化效率。
3. **热激处理。** 将冰浴放置的离心管快速置于42°C水浴中，静置热激45秒。随后立即转移至冰水浴中静置2分钟以快速冷却至接近零度。热激及转移至冰浴过程中切勿晃动离心管。
4. **复苏培养。** 加入900μl不含抗生素的LB培养基，颠倒数次混匀，37°C摇床约150rpm复苏培养1小时。如果用于质粒的转化扩增，复苏培养10-20分钟也完全足够了；如果用于连接产物或重组产物的转化，建议严格进行复苏培养操作。
5. **收菌涂板。** 约5000×g室温离心1分钟，沉淀细菌，吸除约900-950μl上清，余下约50-100μl上清。用移液器轻轻吹打并重悬菌体，随后涂布到含相应抗生素的LB平板上。注：如果用于质粒的转化扩增，可以仅取少量进行涂板；如果用于连接产物或重组产

物的转化，建议取所有重悬的菌液涂板。

6. 将平板倒置放于37°C培养箱培养过夜。

## 参考文献：

1. Love J, Scott AC, Thompson WF. Plant J. 2000. 21(6):579-88.
2. Pootoolal J, Thomas MG, Marshall CG, Neu JM, Hubbard BK, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002. 99(13):8962-7.

## 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0301	一步法感受态细菌制备试剂盒	200次
D0302	超级感受态细菌制备试剂盒	100次
D0303	农杆菌感受态制备试剂盒	100次
D0391	细菌冻存液	50ml
ST156	BeyoPure™ LB Broth (premixed powder)	10瓶共5升
ST158	BeyoPure™ LB Broth with Agar (premixed powder)	10瓶共5升
ST800	Tryptone/胰蛋白胨	500g
ST802	BeyoPure™ Tryptone/BeyoPure™胰蛋白胨	500g
ST968	Yeast extract/酵母膏	500g
ST969	BeyoPure™ Yeast Extract/BeyoPure™酵母膏	500g
ST004D	Agar (琼脂粉)	100g
ST004E	Agar	500g
ST007	Ampicillin	5g
ST008	Ampicillin (100mg/ml,1000X)	5ml
ST101	Kanamycin	1g
ST102	Kanamycin (10mg/ml,1000X)	5ml
D1001S/M	ArcticExpress(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1003S/M	ArcticExpress (DE3) pRARE2超级感受态细胞	10/50×100μl
D1005S/M	BJ5183超级感受态细胞	10/50×100μl
D1007S/M	BJ5183-AD-1超级感受态细胞	10/50×100μl
D1009S/M	BL21超级感受态细胞	10/50×100μl
D1011S/M	BL21(AI)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1013S/M	BL21(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1015S/M	BL21(DE3) PLysS超级感受态细胞	10/50×100μl
D1017S/M	BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL超级感受态细胞	10/50×100μl
D1019S/M	BL21 Star(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1021S/M	BL21 Star (DE3)pLysS超级感受态细胞	10/50×100μl
D1023S/M	C43(DE3)PLysS超级感受态细胞	10/50×100μl
D1025S/M	DB3.1超级感受态细胞	10/50×100μl
D1027S/M	DH10B超级感受态细胞	10/50×100μl
D1029S/M	DH10Bac超级感受态细胞	10/50×100μl
D1033S/M	DH5 $\alpha$ λpir超级感受态细胞	10/50×100μl
D1035S/M	EPI300超级感受态细胞	10/50×100μl
D1037S/M	EPI400超级感受态细胞	10/50×100μl
D1039S/M	ER2566超级感受态细胞	10/50×100μl
D1041S/M	GT115超级感受态细胞	10/50×100μl
D1043S/M	HB101超级感受态细胞	10/50×100μl
D1045S/M	HT115(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1047S/M	JM109超级感受态细胞	20/100×100μl
D1049S/M	JM109(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1051S/M	JM110超级感受态细胞	10/50×100μl
D1053S/M	Mach1-T1超级感受态细胞	20/100×100μl

D1055S/M	MG1655超级感受态细胞	10/50×100μl
D1057S/M	Origami2(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1059S/M	OrigamiB(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1061S/M	OrigamiB(DE3)pLyss超级感受态细胞	10/50×100μl
D1063S/M	OverExpress C43(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1065S/M	Rosetta(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1067S/M	Rosetta2(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1069S/M	Rosetta-gami 2(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1071S/M	Rosetta-gami B(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1073S/M	Rosetta-gami(DE3)pLysS超级感受态细胞	10/50×100μl
D1075S/M	S17-1λpir超级感受态细胞	10/50×100μl
D1077S/M	Stable超级感受态细胞	10/50×100μl
D1079S/M	Stbl2超级感受态细胞	10/50×100μl
D1081S/M	Stbl3超级感受态细胞	10/50×100μl
D1083S/M	SURE超级感受态细胞	10/50×100μl
D1085S/M	TG1超级感受态细胞	10/50×100μl
D1087S/M	TOP10超级感受态细胞	20/100×100μl
D1089S/M	TOP10F <sup>-</sup> 超级感受态细胞	10/50×100μl
D1091S/M	Tuner(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1093S/M	Turbo超级感受态细胞	10/50×100μl
D1095S/M	XL10-Gold超级感受态细胞	10/50×100μl
D1097S/M	XL1-Blue超级感受态细胞	10/50×100μl
D1099S/M	XL2-Blue超级感受态细胞	10/50×100μl

Version 2024.08.01