

## TOPO10 菌株

产品编号: JZ005

### 菌株说明

TOPO10 菌株转化效率高达  $10^8$  以上。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复制。  
基因型: F<sup>-</sup>, mcrA $\Delta$  (mrr-hsd RMS-mcrBC),  $\phi$ 80, lacZ  $\Delta$  M15,  $\Delta$ lac X74, recA1, ara  $\Delta$  139  $\Delta$  (ara-leu)7697, galU, galK, rps, (Strr) endA1, nupG。

### 菌株保存

穿刺菌短期保存于 4°C, 甘油菌可长期保存于 -80°C。

### 感受态细菌制备步骤

1. 从 37°C 培养 16~24h 的新鲜平板中挑取一个单菌落, 转到 5~10ml 培养液中 300rpm 培养过夜。按照 1: 60 稀释到新鲜培养液, 继续培养 3h。为得到有效转化, 活细胞数不超过  $10^8$  细胞/ml (OD 0.6~0.8)。
2. 冰浴 10min, 于 4°C、4000rpm 离心 10min, 收集细菌。
3. 弃培养液, 用 1ml 冰预冷的 0.1M CaCl<sub>2</sub> 重悬每份沉淀, 放置于冰上 30min。
4. 4°C、4000rpm 离心 10min 以回收细菌, 倒置 1min, 以去除残留的痕量培养液。
5. 每 10ml 初始培养物用 200ul 冰预冷的 0.1M CaCl<sub>2</sub> 重悬每份细菌沉淀。
6. 分装小份并加入终浓度 10~15% 甘油冻存于 -70°C。有研究表明 4°C 在 CaCl<sub>2</sub> 贮存的最初 12~24h 内, 转化效率增加 3~5 倍。

**Note:** 推荐使用 GK6031 高效感受态细胞制备试剂盒。

### 质粒转化操作步骤

1. 感受态细菌使用前在冰中解冻。
2. 融解后, 轻柔混合均匀, 取 100  $\mu$ l 的感受态细菌移入试管中 (忌 Vortex)。
3. 加入用于转化的 DNA (不超过 10ng, 体积不多于 10ul)。
4. 在冰中放置 30 分钟。
5. 42°C 放置 90 秒, 忌摇动。
6. 立即移入冰中放置 1~2 分钟。
7. 加入预先保存在 37°C 的 SOC 培养基 900  $\mu$ l。
8. 37°C 振荡培养 45~60min (160~225 rpm)。
9. 适量涂平板。
10. 37°C 放置过夜。

**Note:** 转化时, 除用试管外, 还可以用 Eppendorf tube, 但转化效率稍低。

使用 100  $\mu$ l Competent Cells 转化时, DNA 的使用量不能大于 10 ng。

除 SOC 培养基以外, LB 培养基或 fb-broth 也可使用, 但有时效率稍低。

### Product Use Limitation:

*This product is developed, designed and sold exclusively for research purpose and in vitro use only.*

