

Efficom Top10 Chemically Competent Cell

目录号

GS1000

基因型

F⁻ *mcrA* Δ(*mrr-hsdRMS-mcrBC*) φ80 *lacZ*ΔM15 Δ*lacX*74 *recA1* *ara*Δ139 Δ(*ara-leu*)7697 *galU* *galK* *rpsL* (Str^R) *endA1* *nupG*

产品组成

组分	规格
<i>Efficom</i> Top10 Chemically Competent Cell	10 × 100 μL
pUC19(Control Vector,10 pg/μL)	10 μL

保存条件

-80°C保存 6 个月。

产品简介

Efficom Top10 Chemically Competent Cell 经优化的感受态制备工艺制作而成，可用于 DNA 的化学转化，使用 pUC19 质粒 DNA 检测，转化效率高达 5×10^9 cfu/μg。该菌株缺失核酸内切酶 (*endA1*)，提高了质粒 DNA 的产量和质量；重组酶 (*recA1*) 的突变减少插入片段的同源重组概率，保证了插入 DNA 的稳定性；*hsdR* 可有效转化经 PCR 扩增得来的未甲基化 DNA；*lacZ*ΔM15 用于重组克隆的蓝白斑筛选实验。

产品特点

- ◇ 转化效率高达 5×10^9 cfu/μg；
- ◇ *recA1*和 *endA1*的突变有利于 DNA 的稳定克隆及高纯度质粒 DNA 的提取。

适用范围

适用于 DNA 的化学转化、蓝白斑筛选等实验，是实验室常用克隆感受态之一。

注意事项

1. 本产品具有链霉素抗性；
2. 请勿将感受态反复冻融，加入目的 DNA 时应轻柔操作；
3. 感受态细胞应插入冰上缓慢融化（请勿用手握化）后立即加入目的 DNA，此时转化效率最高（感受态细胞融化后长时间置于冰上不加目的 DNA 会降低转化效率）；
4. 目的 DNA 不能超过感受态总体积的 1/10。

使用方法

- 1) 取 100 μ L 冰上融化的感受态细胞，加入目的 DNA（质粒或连接产物），轻柔混匀，冰上静置 30 min；
- 2) 42°C 水浴热激 45 s，迅速冰上静置 2 min（注意不要晃动离心管，以免降低转化效率）；
- 3) 向离心管中加入 700 μ L 不含抗生素的无菌培养基（2×YT 或 LB），混匀后 37°C，200 rpm 复苏 1h；
- 4) 根据实验需求吸取不同体积的感受态细胞加到含有相应抗生素的 2×YT 或 LB 固体培养基上，均匀涂开后吹干平板；
- 5) 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。

常见问题与解决办法

Q1：转化后平板不长菌或长菌数较少？

A1：

- 1) 上游连接效率较低。建议检查上游插入片段质量、连接比例、反应温度及时间是否合适；
- 2) 感受态细胞失效或效率降低。使用新鲜感受态细胞，感受态请勿反复冻融，建议使用本产品中附带 pUC19 质粒做一组阳性对照实验；
- 3) 抗生素存在问题。检查抗生素是否失效，抗生素种类、用量是否正确，建议重新配制平板重复实验。

Q2：转化后平板出现卫星菌落或杂菌？

A2：

- 1) 抗生素存在问题。检查抗生素是否失效，用量是否正确，氨苄抗性可适当提高抗生素浓度；
- 2) 培养温度或时间不合适。检查培养箱温度，37°C 培养时间不宜过长；
- 3) 存在污染。感受态细胞在操作过程中被污染，建议做一组阴性对照实验（不加 DNA 只转化空感受态于抗性平板）检查操作过程是否污染了相同抗性的菌株。若存在污染，建议更换试剂及耗材，可使用核酸清洁剂（目录号：GS70090）对实验台面、环境进行清洁。