

XL10-Gold 电击感受态细胞

XL10-Gold Electroporation-Competent Cell

保存条件： -80℃

产品规格:

XL10-Gold	5×50μl
pUC19 (control vector)	10pg/μl;10μl

基 因 型

Tet^r Δ (mcrA)183 Δ (mcrCB-hsdSMR-mrr)173 endA1 supE44 thi-1 recA1 gyrA96 relA1 lac Hte[F' proAB lacI^qZ Δ M15 Tn10 (Tet^r) Amy Cam^r]

简 要 说 明

XL10-Gold 是目前转化效率最高的感受态细胞，由 Stratagene 开发的特异性用于大质粒或珍贵连接产物转化或构建文库的超级感受态细胞。XL10-Gold 菌株为 Hte (high transformation efficiency) 基因型，Hte 是 Stratagene 开发的特异性提高感受态转化效率及大质粒转化能力的宿主菌基因型，已成功应用于 40kd 质粒的构建。[Δ (mcrA)183 Δ (mcrCB-hsdSMR-mrr)173] 赋予 XL10-Gold 缺失几乎所有已知的限制酶切系统；同时缺失核酸内切酶(endA)，提高了质粒 DNA 的产量和质量；重组酶缺陷型(recA)减少插入片段的同源重组概率，保证了插入 DNA 的稳定性；Tet^r，Cam^r 赋予菌株四环素和氯霉素抗性；lacI^qZ Δ M15 的存在使 XL10-Gold 可用于蓝、白斑筛选。XL10-Gold 感受态细胞经特殊工艺制作，经 pUC19 质粒检测转化效率>2×10⁹cfu/ μ g。

操 作 说 明

- 0.1cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5 分钟，待其沥干水分，正置 5 分钟，使乙醇充分挥发，待乙醇挥发干净立即插入冰中，压实冰面，电极杯顶离冰面 0.5cm 以方便盖上杯盖，冰中静置 5 分钟充分降温。
- 取-80℃保存的 XL10-gold 电击感受态细胞插入冰中 5 分钟，待其融化，加入目的 DNA(质粒或连接产物)并用手拨打 EP 管底轻轻混匀，避免产生气泡，立即插入冰中。
 - 测定转化效率使用 1 μ l 10 pg/ μ l 的对照质粒 pUC19；

- B. 对于连接产物，请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液 (10 mM Tris HCl, pH7.5; 1 mM EDTA) 重悬，DNA 浓度不超过 100 ng/ μ l，体积不超过 5 μ l/50 μ l 感受态。
3. 用 200 μ l 枪头(用刀切除 0.5cm 枪尖)将感受态-DNA 混合物快速移到电击杯中，避免产生气泡，盖上杯盖。
 4. 启动电转仪，设置参数: C=25 μ F, PC=200 Ω , V=1.8 kV (此为 BioRad 电转仪推荐参数，也可按所用 电转仪推荐的参数操作)，将电击杯快速放入电转槽中，电击完成快速插入冰中。
 5. 立即 向电击杯中加入 1000 μ l 不含抗生素的无菌培养基 S. O. C.，混匀后转移到空 50ml 管中，并用 1ml SOC 轻柔冲洗电转杯并转移到 50ml 管中，另补加 3ml SOC 培养基， 37℃，200 rpm 复苏 60 分钟。
 6. 5000 rpm 离心一分钟收菌，重悬后取 100-200 μ l 涂布到含相应抗生素的 S. O. C 平板上(因菌量较大，若全部涂板请选用直径 15cm 培养皿 2-5 个)。将平板倒置放于 37℃培养箱过夜培养过夜。

注 意 事 项

1. 加入DNA 时体积不应大于感受态体积的1/10。
2. 电击感受态细胞加入电击杯应避免产生气泡，气泡会增加弧光放电风险。
3. 当DNA 不纯或存在盐，乙醇，蛋白及缓冲液等污染时，转化效率急剧下降。
4. 电击杯里的离子可增加溶液的电导，增大在含有细胞和DNA 的溶液产生电流和弧光放电的风险。
5. 若转化大质粒或想获得较高转化效率，推荐使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒。质粒增大一倍，转化效率下降一个数量级。
6. 对于连接产物转化，最好转化前乙醇沉淀DNA 后用适量TE 缓冲液(10 mM Tris HCl, pH7.5; 1 mM EDTA)重悬产物，保证DNA 浓度不超过100 ng/ μ l。过高浓度连接产物或过大体积连接产物会降低转化效率，增加弧光放电的风险。
7. 混入质粒时应轻柔操作，吸取感受态细胞时避免用力过猛，以免剪切力过大损伤细胞膜，降低转化效率。转化高浓度的质粒或连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
8. 电击感受态细胞最好保存在-80℃以下，高于-80℃超期储存会导致转化效率会下降。