



# XL10-Gold 电转感受态细胞

## XL10-Gold Electroporation Competent Cell

Cat.NO. ZC1016D

目录编号	产品名称	包装单位
□ ZC1016D	XL10-Gold 电转感受态细胞	10×50μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl)5μl (质量控制用)。

储存: -70°C 保存六个月。

### 产品介绍:

XL10-Gold 是由 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<sup>R</sup>, Cam<sup>R</sup> 赋予菌株四环素和氯霉素抗性; lacIqZΔM15 的存在使 XL10-Gold 可用于蓝、白斑筛选。XL10-Gold 电转感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率可达  $1 \times 10^{10}$  cfu/μg DNA。

基因型为: Tet<sup>R</sup> Δ(mcrA)183 Δ(mcrCB-hsdSMR-mrr)173 endA1 supE44 thi-1 recA1 gyrA96 relA1 lac Hte [F' proAB lacIqZΔM15 Tn10 (Tet<sup>R</sup>) Amy Cam<sup>R</sup>]

### 操作方法:

1. 电极间距为 0.1cm 的电转杯 (Gene Pulser®/MicroPulser™ electroporation cuvettes) 插入碎冰中, 压实冰面, 冰中静置 5 分钟, 使电转杯充分降温。(电转杯重复使用方法: 每次用完后, 用大量的自来水冲洗干净去掉菌液和 DNA, 用蒸馏水洗 3 遍, 将其泡在 75% 乙醇中 30 分钟, 取出杯子, 沥干液体, 放在超净台中, 使乙醇充分挥发, 盖上盖子放干燥地方备用)。
2. 取 -70°C 保存的感受态细胞插入冰中, 待细胞刚化冻后, 加入质粒 DNA 或连接产物(洗脱或溶解质粒的溶液中离子不能太高, 或用双蒸水稀释, 对照 pUC19 可以用无菌水稀释到 10pg/μl), 用手指拨打管底轻轻混匀, 立即插入冰中, 在超净台中用无菌吸头将细胞 /DNA 混合物快速转移到电击杯中, 避免产生气泡, 确保细胞沉到杯底, 盖上杯盖, 空管保留待用。
3. 启动电转仪, 设置电击参数: 2.4kV, 200Ω, 25μF(BTX ECM 630 或 Bio-Rad GenePulser)。用纸巾擦掉电转杯外部的水分, 将电转杯放入电转槽中进行电击。完成后, 将电转杯插入冰中, 加入 950μl 无抗生素的 SOC 或 LB 培养基, 并将液体转移到原来保留的感受态空管中, 37°C, 150-250rpm 振荡培养 1 小时。
4. 取 100-200μl 左右的菌液或稀释后的菌液, 涂布于含相应抗生素的 LB 平板上, 倒置放于 37°C 培养箱培养 12-18 小时。



## 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. DNA 加入到细胞中后, 立即进行电击操作; 电击完成后立刻加上 LB 或 SOC 等复苏培养基, 每分钟延迟加入会导致 3 倍转化效率的降低。
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 的溶液中产生电流和弧光放电的风险。
5. 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。
6. 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。
7. 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 (10mM Tris HCl, pH7.5; 1mM EDTA) 重悬产物, 保证 DNA 浓度不超过 100ng/μl。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。
8. 混入质粒时应轻柔操作, 吸取感受态细胞时不可用孔径过小的枪头 (普通 200μl 枪头应剪去枪头尖 0.6cm) 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。
9. 电击感受态细胞最好保存在 -70°C 以下, 高于 -70°C 超期储存会导致转化效率下降。

# ZOMANBIO