

产品简介

XL10 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 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 40 kd 质粒的构建。[Δ (mcrA)183 Δ (mcrCB-hsdSMR-mrr)173] 赋予 XL10 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; TetR, CamR 赋予菌株四环素和氯霉素抗性; lacIqZ Δ M15 的存在使 XL10-Gold 可用于蓝、白斑筛选。XL10 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率 $> 2 \times 10^9$ cfu/ μ g DNA。

产品组成

组分	CC201 (10 支)	CC201 (20 支)
XL10 Chemically Competent Cell	10 \times 100 μ l	20 \times 100 μ l

质量控制

无外源质粒 DNA 残留;
无抗性基因;
转化效率超过 2×10^9 cfu/ μ g pUC19 DNA。

储存条件

本产品应置于-80°C储存, 干冰运输, 勿置于-20°C或液氮中保存。

实验方案

1. XL10 感受态细胞从-80°C拿出, 迅速插入冰中, 5 min 后待菌块融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀 (避免用枪吸打), 冰中静置 25 min。
2. 42°C水浴热激 35 sec (非常重要——Efficiency decreases sharply when cells are heat-pulsed for <30 seconds or for >40 seconds), 迅速放回冰上并静置 2 min, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μ l 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB), 混匀后 37°C, 200 rpm 复苏 60 min。
4. 5000 rpm 离心 1 min 收菌, 留取 100 μ l 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37°C培养箱过夜培养。

注意事项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化, 插入冰中 8 min 内加入目标 DNA, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。混入质粒或连接产物时应轻柔操作。
2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作。
3. 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. XL10 菌株对 < 40 μ g/ml 氯霉素有抗性, 但对 100 μ g/ml 氯霉素敏感。
5. XL10 感受态细胞采用常规转化方法, 转化效率可达 2×10^9 cfu/ μ g DNA; 如果有更高要求, 可尝试 Stratagene 公司推荐的标准 protocol。

附录

常用抗生素浓度

抗生素类型	工作浓度
Ampicillin	100 µg/ml
Carbenicillin	100 µg/ml
Chloramphenicol	33 µg/ml
Kanamycin	30 µg/ml
Streptomycin	25 µg/ml
Tetracycline	15 µg/ml

DNA 中的转化抑制物及去除方式

转化抑制物类型	去除方式
Detergents	乙醇沉淀
Phenol	氯仿抽提及乙醇沉淀
Ethanol or Isopropanol	DNA 溶解前彻底晾干
PEG	柱式纯化或酚氯仿抽提及乙醇沉淀
DNA binding proteins	柱式纯化或酚氯仿抽提及乙醇沉淀