

XL10-Gold 感受态细胞

货号: AC10831

规格: 20×100μL

保存: -70℃保存, 避免反复冻融。6个月。不适合在液氮中保存。

产品简介:

本公司生产的 XL10-Gold 感受态细胞是采用大肠杆菌 XL10 菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于 DNA 的化学转化。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。适合非甲基化 DNA 的转化。使用 pUC19 质粒检测, 转化效率可达 10^8 cfu/μg。

基因型:

Tet^rΔ(mcrA)183Δ(mcrCB-hsdSMR-mrr)173endA1supE44thi-1recA1gyrA96relA1lacHte[F'proABlacI^qZΔM15Tn10(Tet^r) AmyCam^r]

抗生素耐药性: 细胞具有四环素和氯霉素抗性。

操作方法: (以下操作均按无菌条件的标准进行)

1. 取感受态细胞置于冰浴中。
2. 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA (100μl 的感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和), 轻轻旋转离心管以混匀内容物, 在冰浴中静置 30 分钟。
3. 将离心管置于 42℃水浴中放置 60 秒钟, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2 分钟, 该过程不要摇动离心管。
4. 向每个离心管中加入 500μL 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37℃ 150rpm, 摇床振荡培养 60 分钟, 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
5. 无菌条件下, 取适量菌液加到含相应抗生素的 LB 固体培养基平板上, 用无菌的细菌涂布器或玻璃珠将细胞均匀涂开。等平板中的液体完全吸收后, 倒置平板, 37℃培养 12-16 小时。
6. 保留剩余的菌液于 4℃冰箱中, 视平板上菌落生长情况决定去留。

注意事项:

1. 感受态细胞应保存在-70℃, 不可反复冻融, 否则其转化效率将会降低。
2. 实验过程中应严格无菌操作, 防止其它 DNA 或杂菌的污染, 避免为以后的筛选、鉴定带来影响。
3. 转化时, 转化效率与外源 DNA 的浓度在一定范围内成正比, 但当加入的外源 DNA 量过多或体积过大反而会降低转化效率。转化时 DNA 体积要小于感受态细胞体积的十分之一。
4. 转化率的计算: 转化率 = 产生菌落的总数/铺板 DNA 总量。
5. 为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接产物, 以重新转化, 将损失降到最低。