



XL1-Blue Electroporation-Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC111D)

XL1-Blue Electroporation-Competent Cell	50 μ l/支
pUC19 (control vector, 10pg/ μ l):	10 μ l
保存条件(保质期):	-80 $^{\circ}$ C (6 个月)

产品介绍

XL1-Blue 电击感受态细胞只能用于电击转化, 不能用于热激转化。XL1-Blue 菌株能保证高拷贝质粒稳定复制, recA1 和 endA1 的突变有利于插入 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。hsdR17 突变导致 EcoK 核酸内切酶系统缺失, 增强了外源 DNA 的稳定性和提取质量。lacIq Δ M15 的存在使 XL1-Blue 菌株可用于蓝、白斑筛选。此菌株具有四环素抗性。XL1-Blue 电击感受态细胞适用于各种文库构建, 经特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, AmpR) 检测转化效率 $>1 \times 10^{10}$ cfu/ μ g DNA。

基因型: recA1 endA1 gyrA96 thi-1 hsdR17 supE44 (rk-,mk+), relA1 lac [F' proAB lacIq Δ M15: Tn10 (TetR)]

操作方法

1. 取适量 SOC 放 37 度预热 1-2 小时 (每管感受态准备 10ml SOC)。
2. 0.1 cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5 分钟沥干水分, 正置 5 分钟, 待乙醇挥发干净立即插入冰中, 压实冰面, 电击杯顶离冰面 0.5 cm 以方便盖上杯盖, 冰中静置 5 分钟充分降温。(注: 使用新电击杯无需此步骤)
3. 取 -80 $^{\circ}$ C 保存的 XL1-Blue 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。
 - A. 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, 部分公司的 T4 连接酶体系或重组体系可与电击感受态混合后电击转化, 无需进行 DNA 纯化, 但 DNA 浓度不能过高, DNA 浓度不超过 100 ng/ μ l, 体积不超过 5 μ l/50 μ l 感受态。
 - C. 对离子浓度较高的 DNA 溶液或反应体系请用膜纯化或乙醇沉淀法纯化 DNA, ddH₂O 溶解后电击转化。
4. 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), 轻轻晃动使液面保持水平状态, 盖上杯盖, 插入冰中。
5. 启动电转仪, 设置参数: C=25 μ F, PC=200 Ω , V=1.8 kV, 将电击杯从冰中拿出, 用吸水纸擦拭表面, 吸干表面水渍, 放入电转槽中, 电击完成后拿出电转杯放室温, 打开杯盖, 15 秒内加入 0.9ml 预热的 SOC (此步骤可在电转仪旁操作, 无需在超净台操作), 用 1ml 枪吹吸电击杯底部 2-3 次, 混

匀后转移到 50 ml 离心管 (BD Falcon 50 ml 离心管等), 向离心管中补加 S.O.C. 培养基至 10 ml。37°C, 225 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°C 培养箱过夜培养 13-17 小时。

S.O.C 培养基配方

2% Tryptone

0.5% Yeast Extract

10 mM NaCl

2.5 mM KCl

10 mM MgCl₂

10 mM MgSO₄

20 mM glucose

PH-7.0

S.O.C. Medium is suitable for use in the final step of cell transformation to obtain maximal transformation efficiency of E. coli (Hanahan, 1983).

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 的溶液中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, 吸取感受态细胞时不可用孔径过小的枪头 (普通 200ul 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。
8. 电击感受态细胞最好保存在 -80°C 以下, 高于 -80°C 超期储存会导致转化效率会下降。