

XL1-Blue MRF⁺ Kan Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL1031)

XL1-Blue MRF ⁺ Kan Competent Cell	100μl×10
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件 (保质期):	-80°C (6 个月)

● 基因型

Δ(mcrA)183 Δ(mcrCB-hsdSMR-mrr)173 endA1 supE44 thi-1 recA1 gyrA96 relA1 lac [F⁺ proAB lacIqZΔM15 Tn5 (Kan^r)].

● 产品说明

XL1-Blue MRF⁺ Kan 菌株来源于 XL1-Blue 株系, 是限制酶系统缺失型[*Δ(mcrA)183, Δ(mcrCB-hsdSMR-mrr)173*], 且具有卡那霉素抗性 (Kan^r), 可转化具有氯霉素或四环素抗性的质粒。*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。*lacIqZΔM15* 的存在使 XL1-Blue MRF⁺ Kan 菌株可用于蓝、白斑筛选。XL1-Blue MRF⁺ Kan 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 >10⁸ cfu/μg DNA。

● 操作方法

1. XL1-Blue MRF⁺ Kan 感受态细胞从 -80°C 拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的 DNA 并用手拨打 EP 管底充分混匀, 冰中静置 25 分钟。
2. 42°C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰上并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μl 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB), 混匀后 37°C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 留取 100 μl 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 分钟内加入目标 DNA, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。
2. XL1-Blue MRF⁺ Kan 感受态细胞具有卡那霉素抗性, 不可转化具有卡那霉素抗性的质粒。
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. 若要获得大量, 高纯度质粒, 建议在 TB 培养基 (唯地 CAT#: CM1018L) 中摇菌培养 (以标准质粒 PUC19 为例: 在 TB 营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为 LB 的 3-4 倍, SOC 的 2 倍)