

AipCell BL21(DE3)感受态细胞

AipCell BL21(DE3) Competent Cell

使用说明书

货号: CC203

产品组成:

组成	CC203-01	CC203-02
BL21(DE3)	10 支×100μL	20 支×100μL

产品储存: -70°C保存, 避免反复冻融, 一年有效。

产品介绍:

本公司生产的 BL21(DE3)感受态细胞是采用大肠杆菌 BL21(DE3)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。使用 pUC19 质粒检测, 转化效率可达 10^7 , -70°C保存几个月转化效率不发生改变。每支感受态可以酌情分装使用, 降低了实验的成本。质量稳定, 使用方便, 质优价廉。

BL21(DE3)感受态细胞的基因型为: F - ompT hsdSB(rB -mB -) gal dcm (DE3)

产品特点: 该感受态细胞用于以 T7 RNA 聚合酶为表达系统的高效外源基因的蛋白表达宿主。T7 噬菌体 RNA 聚合酶基因的表达受控于 λ 噬菌体 DE3 区的 lacUV5 启动子, 该区域整合于 BL21 的染色体上。该菌适合于非毒性蛋白的表达。

操作步骤:

提示

- ⇒ 感受态细胞应保存在 -70°C, 不可多次冻融和放置时间过长, 以避免降低感受态细胞的转化效率。
- ⇒ 进行转化操作时, 应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
- ⇒ 为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接反应液, 以重新转化, 将损失降到最低。
- ⇒ 感受态细胞融化后做短暂离心, 可得到最大体积的感受态细胞。

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, 如需分装可将刚融化细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中, 置于冰浴中。

注：一次转化感受态细胞的建议用量为 50 μ L，可以根据实际情况分装使用。应注意所用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一。以下实验以 100 μ L 感受态细胞为例。

2. 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA(50 μ L 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 $^{\circ}$ C 水浴中放置 60-90 秒，然后快速将管转移到冰浴中，使细胞冷却 2-3 分钟，该过程不要摇动离心管。

注：(可选)此步骤也可将离心管置于室温进行，时间不需十分准确，夏季或室温较高时，可放置 5-8 分钟左右；如果室温较低，可延长至 8-15 分钟左右。条件允许建议使用 42 $^{\circ}$ C 热激方法。

4. 向每个离心管中加入 500 μ L 无菌的 SOC 或 LB 培养基(不含抗生素)，混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 150rpm，摇床振荡培养 45 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. 将离心管内容物混匀，吸取 100 μ L 已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOB 或 LB 固体琼脂培养基上，用无菌的弯头玻棒轻轻的将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收，倒置平板，37 $^{\circ}$ C 培养 12-16 小时。

注：涂布用量可根据具体实验来调整。如转化的 DNA 总量较多，可取更少量转化产物涂布平板；反之，如转化的 DNA 总量较少，可取 200-300 μ L 转化产物涂布平板。如果预计的克隆较少，可通过离心(4000rpm，2 分钟)后吸除部分培养液，悬浮菌体后将其涂布于一个平板中。(涂布剩余的菌液可置于 4 $^{\circ}$ C 保存，如果次日的转化菌落数过少可以将剩下的菌液再涂布新的培养板)。

=====

