

BL21(DE3)感受态细胞说明书

货号: C1400

规格: 10×100ul / 20×100ul

保存: -70℃保存, 运输为干冰包装。自收货之日起液氮保存至少一年, -70℃保存至少 6 个月。

产品简介:

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℃保存 6 个月转化效率不改变。

基因型: F₀ ompT hsdSB (rB₀ mB₀) dcm gal (DE3)

特点: 该菌株用于高效表达克隆于含有噬菌体 T7 启动子的表达载体 (如 pET 系列) 的基因。T7 噬菌体 RNA 聚合酶位于 λ 噬菌体 DE3 区, 该区整合于 BL21 的染色体上。该菌适合表达非毒性蛋白。

操作方法: (以下各步骤均为无菌操作)

- 1、将感受态细胞置于冰上融化, 以下实验以 100ul 感受态细胞为例。
- 2、向感受态细胞悬液中加入需转化的目的 DNA, 注意目的 DNA 的体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一, 轻轻旋转离心管以混匀内容物, 冰浴放置 30 分钟。
- 3、将离心管置于 42℃水浴中放置 60-90 秒, 然后快速转移到冰浴中放置 2-3 分钟, 注意不要摇动离心管。
- 4、向离心管中加入 500ul 无菌无抗的 SOC 或 LB 培养基, 37℃ 180rpm 振荡培养 1 小时。目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
- 5、取适量已转化的感受态细胞涂布含相应抗生素的 SOC 或 LB 平板, 37℃倒置培养 12-16 小时。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 100ul 左右的转化产物涂板; 反之, 如转化的 DNA 总量较少, 可取 200-300ul 的转化产物涂板。过多菌液可以抑制细菌生长。如果预计的克隆较少, 可通过离心后吸除部分培养液, 悬浮菌体后将其涂布于一个平板中。涂布剩余的菌液可 4℃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平板。

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。

相关产品:

- I1020 IPTG 溶液 (50mg/ml)
- A1170 氯苄青霉素储存液(100mg/ml)
- K1030 Kanamycin (100mg/ml) 卡那霉素
- L1015 LB 固体培养基(干粉)
- L1020 SOC 液体培养基(干粉)
- X1010 X-gal(20mg/ml)