



BL21 (DE3) Chemically Competent Cells

BL21 (DE3) 化学感受态细胞

版本号: V220101

货号: S106

保存: -80°C

运输: 干冰

货号	规格
S106-02	100 µl × 10

【产品概述】

E. coli BL21 (DE3) 菌株是 T7 或 T7//lac 表达系统常用的表达菌株, 其基因型为 F⁻ lon ompT hsdS_B (r_B⁻, m_B⁻) dcm gal λ(DE3)。T7 RNA 聚合酶基因的表达受控于λ噬菌体 DE3 区的 lacUV5 启动子, 该区整合于 BL21 的染色体上。该菌适合于非毒性蛋白的重组表达。本产品是经特殊工艺处理得到的 BL21 (DE3) 化学感受态细胞, 使用 pUC19 质粒检测, 转化效率可达 10⁶ cfu/µg DNA。

【产品组分】

货号	S106-02
BL21 (DE3) Chemically Competent Cells	100 µl × 10

【保存条件】

-80°C 保存, 避免反复冻融, 保质期 6 个月; 干冰运输。

【使用方法】

按照无菌操作规程进行下列操作步骤:

- 取感受态细胞置于冰浴中融化, 待完全化冻后轻轻混匀。如需分装, 可将融化的细胞悬液转移到无菌、预冷的离心管中, 置于冰浴中备用。混匀、分装时动作应轻缓, 以防细胞破裂。
- 向 50-100 µl 细胞悬液中加入目的 DNA, 轻轻混匀, 冰浴中放置 30 min。
注: 加入 DNA 的体积以不超过感受态细胞体积的十分之一为宜。
- 将离心管转移至 42°C 水浴中热激 60-90 s, 然后快速将离心管转移到冰浴中冷却 2 min。该过程不要摇动离心管。
- 向离心管中加入 500-900 µl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37°C, 200 rpm 左右振荡培养 45-60 min, 使菌体复苏并表达质粒上的抗生素抗性基因。
- 根据实验要求, 取适量转化后的菌液加到含相应抗生素的 LB 固体琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。待液体被完全吸收后, 37°C 倒置培养约 16 h。

注意: 涂布量的选择应根据目的 DNA 的性质和浓度适当进行调整, 通常可按下述方法涂布:

- 目的质粒 DNA 在 1 ng 左右时, φ90 mm 平皿可涂布 100 µl, φ55 mm 平皿可涂布 50 µl; 目的质粒浓度较高时, 应相应减少涂布量。
- 连接产物的转化菌液可通过 4,000 rpm 离心 1-2 min 后, 吸除大部分上清, 用剩余的 100-200 µl 上清重悬菌体, 涂布于同一块琼脂平板上。

【注意事项】

- 融化后的感受态细胞应及时进行转化, 以免降低转化效率; 融化后再次 -80°C 冻存的感受态细胞, 其转化效率通常降至 10⁵ cfu/µg DNA 以下, 仍可进行环形质粒的转化。
- 整个操作过程要轻柔, 避免移液枪吹吸。
- 请使用传热性能好的薄壁试管或离心管, 换用不同的试管或离心管时, 应摸索热激时间, 以获得最佳转化效率。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。