

产品说明书

产品名称: **XK BL21(DE3) Chemically Competent Cell**

产品货号: **XK004**

产品组分

| 组分 | XK004-01 | XK004-02 |
|-----------------------------|-----------------|-----------------|
| XK BL21(DE3) Competent cell | 10×100 μL | 100×100 μL |
| *pUC19 (Control Vector) | 10 μL(10 pg/μL) | 10 μL(10 pg/μL) |

*阳性对照质粒，抗性为 Amp，用于验证感受态转化效率。

基因型

F- *ompT hsdS_B(_{FB}-_{MB}-)gal dcm*(DE3)

储存条件

-80°C保存 6 个月，避免反复冻融。

产品简介

BL21(DE3)菌株用于高效表达克隆于含有 T7 启动子的表达载体(如 pET28a、pGEX4T-2)的无毒或低毒基因。其染色体整合有位于λ噬菌体 DE3 区的 T7 RNA 聚合酶基因，该基因可被 lacUV5 启动子启动并表达，因此该菌株可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶。转化 20 kb 大小质粒效率无明显降低。多个外源基因的小量表达试验均取得良好结果，表明该产品蛋白表达能力优异。本产品经优化的感受态制备工艺制备而成，使用 pUC19 质粒 DNA 检测，转化效率可达 1×10^8 cfu/μg。

适用范围

无毒或低毒蛋白原核表达。

注意事项

- ◆ 感受态细胞应保存在-80°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。
- ◆ 感受态细胞应插入冰上缓慢融化（请勿用手握化）后立即加入目的 DNA，此时转化效率最高（感受态细胞融化后长时间置于冰上不加目的 DNA 会降低转化效率）。
- ◆ 目的 DNA 不能超过感受态总体积的 1/10。
- ◆ 微量目的 DNA 转化时，建议按照常规转化方法进行。
- ◆ T7 启动子表达载体含有 lacI 基因时需要加 IPTG(浓度为 0.1~2 mM 均可)。

操作步骤

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。
(一次转化感受态细胞的建议用量为 50-100 μL ，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 μL 感受态细胞为例。
2. 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA，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 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中放置 60 秒，然后快速将管转移到冰浴中，使细胞冷却 2 分钟，该过程不要摇动离心管。
4. 向每个离心管中加入 700 μL 无菌的 SOC 或 LB 培养基(不含抗生素)，混匀后置于 37 $^{\circ}\text{C}$ ，150 rpm，摇床振荡培养 60 分钟，目的是使菌体复苏。
5. 无菌条件下，取适量菌液加到含相应抗生素的 SOB 或 LB 培养基上，用无菌的细菌涂布器或玻璃珠将细胞均匀涂开。等平板中的液体完全吸收后，倒置平板，37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 12-16 小时。(涂布用量可根据具体实验来调整。转化质粒在 10 ng 左右，90 mm 平皿涂布 100 μl ，55 mm 平皿涂布 50 μL 。)
6. 保留剩余的菌液于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中，视平板上菌落生长情况决定去留。



广州欣凯莱生物技术有限公司 联系电话：18078855160
地址：广东省广州市天河区凤凰街道高普路 68 号智慧 68 创业园