

BL21(DE3)pLysS感受态细胞

目录号: CB106

储存条件: -70°C冻存

产品内容:

产品组成	CB106-01	CB106-02
BL21(DE3)pLysS	5×100 μl	10×100 μl
Compcell Control Plasmid pUC19 (0.1 ng/μl)	10 μl	10 μl

Order: 010-59822688

Toll-free: 800-990-6057/400-810-6057

TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD.

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品简介

本公司生产的BL21(DE3)pLysS感受态细胞是采用大肠杆菌BL21(DE3)pLysS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)pLysS菌株介绍

基因型: $F^{ompT} hsdS_B(r_B^- m_B^-) gal dcm(DE3)pLysS$
Cam^r

特点: 该菌株带有质粒pLysS,具有氯霉素抗性。此质粒含有表达T7溶菌酶的基因, T7溶菌酶能够降低目的基因的背景表达水平,但不干扰IPTG诱导的表达。适合于毒性蛋白和非毒性蛋白的表达。

操作步骤

(以下操作均按无菌条件的标准进行)

- 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。
注意: 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。
- 向感受态细胞悬液中加入目的DNA(100 μl的感受态细胞能够被1 ng超螺旋质粒DNA所饱和),轻弹混匀,在冰浴中静置30 min。
- 将离心管置于42°C水浴中放置60-90 sec,然后快速将管转移到冰浴中,使细胞冷却2-3 min,该过程不要摇动离心管。
注意: 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 min左右,如果室温较低,可延长至8-15 min左右。条件允许建议使用42°C热激方法。
- 向每个离心管中加入900 μl 无菌的SOC或LB培养基(**不含抗生素**),混匀后置于37°C摇床振荡培养45 min(150 rpm),目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达,使菌体复苏。

- 将离心管内容物混匀,吸取100 μl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,用无菌的弯头玻璃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°C培养12-16 h。
注意: 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 μl转化产物涂布平板。如果预计的克隆较少,可通过离心(4000 rpm, 2 min)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°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)

注意事项

- 感受态细胞应保存在-70°C,不可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。