

## BL21(DE3) pLysS 感受态细胞说明书

**货号:** AC10835

**规格:** 10×100ul / 20×100ul

**保存:** -70℃保存，干冰运输。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) 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℃保存 6 个月转化效率不发生改变。

**基因型:** F<sup>-</sup>, ompT, hsdSB(rB-mB-), dcm, gal(DE3), pLysS, Cmr

**特点:** 该菌株带有质粒 pLysS，因此具有氯霉素抗性。质粒 pLysS 含有表达 T7 溶菌酶的基因，能够降低目的基因的背景表达水平，但不干扰目的蛋白的表达。该菌适合表达毒性蛋白和非毒性蛋白。

### 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，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℃ 150rpm 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。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、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。
- 2、感受态细胞不可反复冻融，否则其转化效率将会降低。
- 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、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，将损失将到最低。