

BL21(DE3)感受态细胞说明书

货号: AC10827

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: F_ompT hsdSB (rB_mB_) 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。