

Tuner(DE3)感受态细胞

货号: AC10815

规格: 10×100μL

保存: -70℃保存, 6个月, 避免反复冻融。不适合在液氮中保存。

产品简介:

Tuner(DE3)为 LacYZ 突变型 BL21(DE3)菌株。Tuner(DE3)菌株可利用 IPTG 的加入量来精准地控制重组蛋白的表达量, 与 pET 系列载体联合使用, 可以使得蛋白表达从低表达水平到高表达水平进行有效调控(使用低浓度的 IPTG 诱导重组蛋白低水平表达时, 目的蛋白可能会具有更好的可溶性和生物活性)。该菌株含有λ噬菌体 DE3 区, 可以表达 T7 RNA 聚合酶。Tuner(DE3)菌株属于 B 菌株, lon 和 ompT 蛋白酶缺陷型。Tuner(DE3)感受态细胞由特殊工艺制成, pUC19 质粒检测转化效率达 10^7 cfu/μg DNA。

基因型: F-ompT hsdSB (rB-mB-) gal dcmlacYI (DE3)

菌株抗性: 对氨苄青霉素、卡那霉素、氯霉素和四环素敏感。

操作方法: (以下操作均按无菌条件的标准进行)

(以氨苄青霉素抗性的 pET 质粒为例)

1. 将感受态细胞置于冰水浴中化冻。待细胞刚化冻后, 加入 1-5μL 含有 1-100ng 的质粒 DNA 到细胞中, 用手指拨打管底, 轻轻混匀。
2. 冰水浴中放置 30 分钟, 不要晃动。
3. 42℃热击 60 秒钟, 不要晃动。
4. 冰水浴中放置 2 分钟, 不要晃动。
5. 加入 500μL 的室温的 SOC 或 LB 培养基。
6. 置于 37℃摇床中, 150-200rpm, 复苏培养 60 分钟。
7. 取 50-100μL 菌液涂布在含有氨苄青霉素抗性的 LB 平板上。待液体吸干后, 倒置平板 37℃培养 12-24 小时。

(平板划线分离法: 复苏培养结束后, 12000rpm 离心 30 秒钟, 弃掉上清, 留 100μL 左右的液体, 用 200μL 吸头轻轻吹打散菌块, 取 10μL 重悬的菌液分多点滴在平板上, 倾斜吸头, 用吸头头部的侧面将滴在平板上的液体来回划线。这个方法可以获得更大的单克隆菌落)。

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。