

BL21(DE3) Chemically Competent Cell

#CP01010	10×100ul
# CP01020	20×100ul

贮存 -80°C

概述: BL21(DE3)菌株适合表达非毒性蛋白。该菌株是以 T7 RNA 聚合酶为表达系统的外源基因蛋白高效表达的宿主。T7 噬菌体 RNA 聚合酶基因的表达受噬菌体 DE3 区的 lacUV5 启动子调控, 该区整合在 BL21 染色体上。BL21 (DE3) 感受态细胞经特殊工艺处理, 可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测, 转化效率可达 10^7 。

基因型:

F- ompT gal dcm lon hsdSB(rB- mB-) λ(DE3 [lacI lacUV5-T7 gene 1 ind1 sam7 nin5])

操作方法

- BL21(DE3)感受态细胞从-80°C拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用枪轻轻吹打混匀, 冰中静置 25 分钟。
- 42°C水浴热激 90 秒, 迅速放回冰上并静置 5 分钟。
- 向离心管中加入 500μL 不含抗生素的无菌培养基 (SOC 或 LB 培养基), 混匀后 37°C, 200rpm 复苏 60 分钟。
- 3000rpm 瞬时离心收菌, 留取 100μL 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含所选质粒筛选抗生素的 LB 培养基上。
- 待平板正置培养 30min 后, 再将平板倒置放于 37°C培养箱过夜培养。

注意事项

- 感受态细胞最好在冰中缓慢融化, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。
- 混入质粒时应轻柔操作。
- 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
- 诱导时, IPTG 浓度可选(0.1-2mM 均可)。
- 为获得需要量的蛋白, 最佳诱导时间, 温度, IPTG 浓度需实验者优化。