

BL21(DE3) 化学感受态

产品简介

BL21(DE3) 感受态细胞适用于无毒异源基因的表达。该菌株含有受 lacUV5启动子控制的 T7 RNA聚合酶基因 (λ DE3)，可实现 IPTG诱导的 T7 RNA聚合酶表达。BL21(DE3)是一种大肠杆菌 B菌株，不含 lon蛋白酶。其也缺乏外膜蛋白酶 OmpT。不存在这两种关键蛋白酶可降低细胞中表达的异源蛋白的降解。转化效率超过 10^8 cfu/ μ g DNA，可以用于 pET等系列质粒的蛋白高效表达。

产品组成

组分	AO4103-01	AO4103-02	AO4103-C
BL21(DE3)化学感受态	10 $\times$ 100 μ L	100 $\times$ 100 μ L	定制
基因型：F ^{ompT} hsdS ^(r^B m^B) gal dcm(DE3)			

存储条件

-80 $^{\circ}$ C保存；请勿将本品置于-20 $^{\circ}$ C或者液氮中保存！

使用方法

1. 解冻感受态细胞：从80 $^{\circ}$ C取出感受态细胞，冰上融化约5-10 min，然后立即进行DNA样品的转化。
2. DNA样品的转化：每 100 μ L感受态可加入 0.5-10 μ L待转化 DNA样品（例如质粒、连接产物或重组产物等），然后轻轻弹击管底约 5-6次，立即冰上静置孵育 30 min。

待转化 DNA样品的加入体积不宜超过感受态细胞体积的 1/10。

加入待转化 DNA样品后应轻柔弹击混匀，避免使用移液枪剧烈吹打混匀。

用于质粒的转化时可将冰浴时间缩短至 5-10 min；用于连接产物或重组产物转化时，建议冰浴时间为 15-30 min以提高转化效率。

3. 热激处理：冰浴后，将装有感受态和 DNA样品的离心管快速置于 42 $^{\circ}$ C水浴中，静置热激 90 s，随后立即转移至冰上静置 2-3 min以快速冷却。

热激时间需要精确控制在 45-90 s

热激及转移至冰浴过程中禁止晃动离心管。

4. 复苏培养：加入 900 μ L 室温或 37 $^{\circ}$ C 预热的 LB培养基（或 SOC培养基等），上下颠倒数次混匀，然后将离心管倾斜放置在恒温摇床中，37 $^{\circ}$ C 220 rpm复苏培养 45 min。

37 $^{\circ}$ C为常规复苏温度，若转入质粒对温度敏感或其它特殊情况需根据实验要求设置合适的温度。

5. 收菌涂板：用于质粒转化时，复苏后可直接取 50-100 μ L菌液涂板；用于连接产物或重组产物转化时，建议先 5000 g 1 min室温离心，吸弃约 900 μ L上清，然后用剩余的约 100 μ L重悬菌液，涂布到

BL21(DE3) 化学感受态

°C

培养前需要将平板在超净台中稍微晾至无明显水渍，有利于形成单克隆。

37°C 为常规培养温度，若转入质粒对温度敏感或其它特殊情况需根据实验要求设置合适的温度。

注意事项

1. 感受态细胞冰上解冻后应立即使用，融化时间过长可能会影响转化效率；
2. 为确保更高转化效率，整个操作过程中除热激外均要保持低温，并且要尽量轻柔。