

BL21(DE3)超级感受态细胞

产品编号: MB15030-1 规格: 100μL×50 支/包

产品内容:

产品组成	MB15030-1
BL21(DE3)超级感受态细胞	100μL×50 支/包
说明书	1 份

产品简介:

BL21(DE3)超级感受态细胞, 是一种可以用于 IPTG 诱导下的重组蛋白表达的 *E. coli* BL21(DE3)即用型化学感受态细胞。使用 pUC19 质粒进行热激活转化, 在严格按照使用说明进行操作时, 转化效率可以达到 $1.0 \pm 0.5 \times 10^7$ cfu/μg DNA。

BL21 适合 T7 启动子驱动的重组蛋白诱导表达系统, 比如常见的原核表达载体 pET 系列。该菌株缺失内源性蛋白酶的大肠杆菌 B 菌株, 它能有效避免重组表达蛋白的降解, 广泛用于重组蛋白的表达。BL21(DE3)是被λ噬菌体 DE3 溶原化所得 BL21 衍生菌株。噬菌体 DE3 中的 T7 RNA 聚合酶受到 lacUV5 启动子控制。外源添加 IPTG 可以诱导 BL21(DE3)菌株中 T7 RNA 聚合酶的快速表达。T7 RNA 聚合酶进而识别表达质粒载体上的 T7 启动子, 从而驱动重组蛋白的高效表达。

BL21(DE3)菌株的基因型为 F- *ompT hsdS_B(r_B⁻ m_B⁻) gal dcm(DE3)*。其中 *ompT* 可减少外膜蛋白酶的表量, 从而减少重组蛋白的水解, 提高表达产量; *hsd* 基因变异可致菌株细胞内的 I 型限制酶 EcoK 或 EcoB 活性缺失, 从而提高 PCR 产物的转化效率; *dcm* 可消除甲基化对腺嘌呤和胞嘧啶的影响, 从而帮助某些外源质粒复制, 比如携带易受甲基化影响的酶切位点的外源质粒。

操作方法:

- 解冻感受态细胞。取感受态细胞放置冰浴或冰水浴中融化, 通常需要 5 分钟以上的时间。解冻后须尽量在 10 分钟内使用, 放置时间过长会影响转化效率。
- DNA 样品的转化。取一管感受态细胞, 加入 DNA 样品, 例如质粒、连接产物或重组产物等, 轻轻弹击管底约 2-3 次或轻轻晃动约 2-3 次以混匀, 立即冰浴静置 30 分钟。
- 注: 所用 DNA 体积通常不宜超过感受态细胞体积的 10%, 混合时不得使用移液器进行吹打。如果用于质粒的转化扩增, 冰浴静置约 10 分钟, 后续可以直接涂板并培养过夜; 如果用于连接产物或重组产物的转化, 建议冰浴静置 30 分钟并严格执行后续的热激处理和复苏培养等步骤, 以提高转化效率。
- 热激处理。将冰浴放置的离心管快速置于 42℃ 水浴中, 静置热激 45 秒。随后立即转移至冰水浴中静置 2 分钟以快速冷却至接近零度。热激及转移至冰浴过程中切勿晃动离心管。
- 复苏培养。加入 900μl 不含抗生素的 LB 培养基, 颠倒数次混匀, 37℃ 摇床约 150rpm 复苏培养 1 小时。如果用于质粒的转化扩增, 复苏培养 10-20 分钟也完全足够; 如果用于连接产物或重组产物的转化, 建议严格进行复苏培养操作。
- 收菌涂板。约 5000×g 室温离心 1 分钟, 沉淀细菌, 吸除约 900-950μl 上清, 余下约 50-100μl 上清。用移液器轻轻吹打并重悬菌体, 随后涂布到含相应抗生素的 LB 平板上。注: 如果用于质粒的转化扩增, 可以仅取少量进行涂板; 如果用于连接产物或重组产物的转化, 建议取所有重悬的菌液涂板。
- 将平板倒置放于 37℃ 培养箱培养过夜。

保存条件: -80℃ 保存, 一年内有效。避免反复冻融, 通常制备 6 个月后转化效率随保存时间延长而逐渐降低。

运输条件: 干冰运输。

注意事项:

- 感受态细胞禁止反复冻融, 并应尽可能避免冻融, 反复冻融会导致转化效率大幅下降。



- 感受态细胞融化后，须尽快加入待转化样品，不宜在无转化产物的情况下放置时间超过 10 分钟或以上时间，以免降低感受态细胞的转化效率。
- 待转化样品的体积通常不宜超过感受态细胞体积的 10%，样品体积过大会导致转化效率下降。
- 感受态细胞对于温度变化非常敏感，需要避免出现不应有的使用说明之外的温度变化。
- 感受态细胞对于机械力非常敏感。加入待转化样品时应轻柔操作，不能使用移液枪吹打混匀。
- 通常仅建议取部分样品用于转化，这样万一遇到转化失败的情况，还留有样品可以再次进行转化。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

S250401

