

BL21 Star(DE3)超级感受态细胞

产品编号: MB15032-1

规格: 100μL×50 支/包

产品内容:

产品组成	MB15032-1
BL21 Star(DE3)超级感受态细胞	100μL×50 支/包
说明书	1 份

产品简介:

BL21 Star(DE3)超级感受态细胞, 是一种可以用于将异源蛋白以超高水平表达的 *E.coli* BL21 Star(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 $1.0 \pm 0.5 \times 10^8$ cfu/μg DNA。

E.coli 细胞具有内源性的 mRNA 降解小体(mRNA degradosome), 其中包含由 *rne131* 基因编码的 RNase E。BL21 Star(DE3)中 *rne131* 的基因突变, 导致 RNase E 功能缺陷, 增加了目的基因的 mRNA 稳定性, 表现为重组蛋白的超高得率。

BL21 Star(DE3)是在 BL21(DE3)的基础上改造而成, 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。同时含有大肠杆菌 RNA 聚合酶, 也可用于非 T7 启动子表达载体(pGEX、pMAL 等)的蛋白表达。由于 BL21 Star(DE3)菌株的异源基因基础表达水平较高, 所以不适合毒性蛋白的表达。

BL21 Star(DE3)菌株的基因型为 F- *ompT* *hsdS*_B(*r*_B⁻ *m*_B⁻) *gal dcm rne131* (DE3)。

操作方法:

1. 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。
2. 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。
3. 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。
4. 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。
5. 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。
6. 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。
7. 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

