



Shuffle T7-K12 感受态细胞

Shuffle T7-K12 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1228

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1228-1	Shuffle T7-K12 感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC1228-2	Shuffle T7-K12 感受态细胞	20×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl) 5μl (质量控制用)。

储存: -70°C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 Shuffle T7-K12 感受态细胞是采用特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测, 转化效率 10^7 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: F' lac, pro, lacIq / Δ(ara-leu)7697 araD13fhuA2 lacZ::T7 gene1 Δ(phoA)PvuII phoR ahpC* galE(or U) galKλatt::pNEB3-r1-cDsbC (Spec^R, lacIq) ΔtrxBrpsL150(Str^R)Δgor Δ(malF)3

产品特点:

Shuffle T7-K12 菌株来源于大肠杆菌 K12 菌株, 适用于 T7 启动子启动的蛋白表达。细胞内组成型表达的二硫键异构酶 DsbC 不仅有利于表达蛋白形成正确的二硫键, 并具有分子伴侣的功能, 帮助不含二硫键的蛋白正确折叠。T7 RNA 聚合酶基因整合在细菌染色体上的 lac 操纵子区域, 组成型表达的 lac 阻遏蛋白能降低基因的背景表达, 有利于毒性蛋白的表达, 没有 λ 前噬菌体序列, 具有抗 T1 噬菌体感染特点。对氨基青霉素, 氯霉素, 卡那霉素和四环素敏感, 对链霉素和壮观霉素抗性。

操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:**取感受态细胞置于冰浴中(解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置 30 分钟。
注意:所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:**将离心管置于 42°C 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- **复苏:**向每个离心管中加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37°C 180rpm 摇床振荡培养 45-60 分钟, 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
- **涂板:**根据实验要求 (质粒, 重组连接产物转化), 吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37°C 培养 12-16 小时。

提示:

- 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下, 半小时内活性无明显变化, 因此, 同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70°C, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 请在无菌条件下, 根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸, 整个过程要轻柔, 尽量低温操作。
- 为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接反应液, 以重新转化, 将损失降到最低。
- 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。