



TKB1 感受态细胞

TKB1 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1257

目录编号	产品名称	包装单位
■ ZC1257-1	TKB1 感受态细胞	100μl × 10

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 TKB1 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, 转化效率高达 10^7 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: E. coli B F- dcm ompT hsdS($r_B^- m_B^-$)galλ(DE3) [pTK Tet^R]

产品特点:

TKB1 是 BL21(DE3) 菌株的衍生菌株, 广泛用于蛋白的原核表达实验, 该菌株表达的蛋白可以在潜在的酪氨酸位点完成磷酸化, 提高原核表达蛋白的可溶性和有功能蛋白的大量纯化。将酪氨酸激酶 Tyrosine Kinase(TK) 基因连入可诱导的启动子构建质粒, 并将该质粒命名为 pTK; pTK 质粒转入 BL21(DE3) 菌株, 命名为 TKB1 菌株。TKB1 为 Lon 和 OmpT 蛋白酶缺陷型菌株, 可促进表达蛋白的稳定; 同时该菌株染色体整合了 λ 噬菌体 DE3 区 (DE3 区含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶, 整合于大肠杆菌的染色体上), 可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。

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。
- **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。



ZOMANBIO

Order: 010-62617225
Technical: 010-62979301
Email: zomanbio@126.com

本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

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。
- 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 (0.1-2 mM 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。
- **TKB1 菌株具有四环素抗性，不可用于具有四环素抗性质粒的转化，携带 pTK 质粒，除复苏培养基为无抗生素外，其余所用培养基、培养液均应含有 $10\ \mu\text{g/ml}$ 四环素，以防质粒丢失。**

ZOMANBIO