



BL21 (DE3) T1 感受态细胞

BL21 (DE3) Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1269

目录编号	产品名称	包装单位
■ ZC1269-1	BL21(DE3)T1 感受态细胞	100 μ l $\times$ 10

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

储存: -70 $^{\circ}$ C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 BL21 (DE3) T1 感受态细胞由特殊工艺制成, pUC19 质粒检测转化效率大于 1×10^7 cfu/ μ g DNA。

基因型为: fhuA2 [lon] ompTgal (λ DE3) [dcm] Δ hsdS λ DE3 = λ sBamHIo Δ EcoRI-B int:: (lacI::PlacUV5::T7 gene1) i21 Δ nin5

产品特点:

BL21 (DE3) T1 来源于 BL21 (DE3) 菌株, 该细菌具有抗 T1 噬菌体感染的特性, 缺乏细胞质蛋白酶 Lon 和外膜蛋白酶 OmpT。功能和 BL21 (DE3) 完全一样。该菌株具备 λ 噬菌体 DE3 基因区, 可以表达 T7 RNA 聚合酶, 适用于含有 T7 启动子的原核表达载体 (如 pET 等) 的高效表达。非 T7 启动子的表达载体 (如 pGEX、pMal, pTrc 等载体) 也可以在该菌株中表达。对氨苄青霉素、卡那霉素、壮观霉素、链霉素、四环素、氯霉素敏感。

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 $^{\circ}$ 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 500 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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。