



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 010-58437227 82598075

Fax: 010-82597807

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@163.com

BL21(DE3)化学感受态细胞

目录号: RTX304

储存条件: -70℃冻存六个月

产品包装:

货号	RTX304-03
BL21 (DE3)	20×100 μl
Competent cell Control Plasmid pUC18 (1 ng/μl)	10μl

产品简介:

本公司生产的 BL21(DE3)感受态细胞采用经特殊工艺处理得到,可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测,转化效率可达 10^8 cfu/μg, -70℃ 保存几个月转化效率不发生改变。

BL21(DE3)菌株介绍:

特点: (1) T7 RNA 聚合酶基因的表达受控于 λ 噬菌体 DE3 区的 lacUV5 启动子,该区整合于 BL21 的染色体上。

(2) 适用于 T7、T7 lac 启动子的表达系统,如 pET, pEASY。

(3) 适用于非毒性蛋白的表达。

(4) 使用 pUC19 质粒 DNA 检测,转化效率可达 10^7 cfu/μg DNA。

操作方法: (以下操作均按无菌条件的标准进行)

1 取感受态细胞置于冰浴中,如需分装可将刚融化细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中,置于冰浴中。一次转化感受态细胞的建议用量为 50-100 μl,可以根据实际情况分装使用。应注意所用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一。

以下实验以 100 μl 感受态细胞为例。

2 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA (50 μl 的感受态细胞能够被 1 ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和),轻轻旋转离心管以混匀内容物,在冰浴中静置 30 分钟。

3 将离心管置于 42℃ 水浴中放置 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。

4 向每个离心管中加入 500 μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基(不含抗生素),混匀后置于 37℃ 摇床振荡培养 45 分钟(150 转/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。

5 将离心管内容物混匀,吸取 100 μl 已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOB 或 LB 固体琼脂培养基上,用无菌的弯头玻棒轻轻的将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收,倒置平板,37℃ 培养 12-16 小时。

注:涂布用量可根据具体实验来调整。如转化的 DNA 总量较多,可取更少量转化产物涂布平板;反之,如转化的 DNA 总量较少,可取 200-300 μl 转化产物涂布平板。如果预计的克隆较少,可通过离心(4,000 rpm, 2 分钟)后吸除部分培养液,悬浮菌体后将其涂布于一个平板中。(涂布剩余的菌液可置于 4℃ 保存,如果次日的转化菌落数过少可以将剩下的菌液再涂布新的培养板)

注意事项:

1. 感受态细胞应保存在 -70°C ，不可多次冻融和放置时间过长，以避免感受态细胞的转化效率。
2. 进行转化操作时，应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
3. 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。