



BL21 Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC203)

BL21 :	100 μ l/支
pUC19 (control vector, 0.1ng/ μ l):	5 μ l
保存条件(保质期) :	-80 $^{\circ}$ C (6 个月)

产品介绍

BL21 是最早开发的用于原核表达的菌株, BL21(DE3)、Rosetta、OrigamiB(DE3) 等一系列原核表达菌株均来源于 BL21 菌株。该菌株主要用于毒蛋白与非毒性蛋白的表达, 不含 T7 RNA 聚合酶, 所以不能用于由 T7 启动子驱动的表达(如: pET 系列); 但含有大肠杆菌 RNA 聚合酶, 可以用于 tac 或 trc 等使用大肠杆菌 RNA 聚合酶的原核系统的表达(如: pGEX, pMAL 质粒)。BL21 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率达 10^6 cfu/ μ g DNA。

基因型: *E. coli* B F- *dcm ompT hsdS*($r_B^- m_B^-$) *gal* [*maB*⁺]_{K-12}(λ^S)

操作方法

1. 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 25 分钟。

注意: 所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞体积的 1/10。

2. 将离心管置于 42 $^{\circ}$ C 水浴中放置 60 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2 分钟, 该过程不要摇动离心管。

3. 向每个离心管中加入 700 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。

4. 根据实验要求, 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。

注意事项

1. 感受态细胞需要在冰中缓慢融化, 插入冰中 10 分钟内加入目标 DNA, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。

2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作, 避免用移液枪吹吸。

3. 转化高浓度的质粒时可相应减少最终用于涂板的菌量。

4. 感受态细胞应保存在 -80 $^{\circ}$ C, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。

5. 诱导时, IPTG 浓度可选 (0.1-2mM 均可)。

6. 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。

7. 由于此感受态细胞转化效率较低; 为了更好的实验效果, 建议至少转入 100ng 以上质粒, 取 1/3 以上复苏后菌液涂板; 否则有可能转化失败。