



BL21 Star(DE3)pLysS Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC208)

BL21 Star(DE3)pLysS :	100μl/支
pUC19 (control vector , 0.1ng/μl):	5μl
保存条件(保质期) :	-80°C (6 个月)

产品介绍

BL21 Star(DE3)pLysS 菌株来源于 BL21(DE3), 含有 *rne131* 突变 (RNaseE 基因), RNaseE 基因的突变降低了内源 RNase 的积累, 增强菌株细胞内 mRNA 的稳定性, 从而提高异源蛋白的表达水平。主要适用于 T7 启动子表达载体(如 pET 系列)的高水平蛋白表达, 同时含有大肠杆菌 RNA 聚合酶, 也可用于非 T7 启动子表达载体 (pGEX, pMAL 等) 的蛋白表达。由于 BL21 Star(DE3)菌株的异源基因基础表达水平较高, 所以不适合毒性蛋白的表达。BL21 Star(DE3)pLysS 菌株携带 pLysS 质粒, 具有氯霉素抗性。pLysS 含有表达 T7 溶菌酶的基因, T7 溶菌酶可以作用于大肠杆菌细胞壁上的肽聚糖溶解大肠杆菌, 还可与 T7 RNA 聚合酶结合抑制其转录活性, 进而降低目的基因的背景表达水平, 但不干扰 IPTG 诱导的表达。pLysS 质粒含有 p15A 复制起始子, 可以和含有 pUC 或 pBR322 等复制起始子的质粒兼容。BL21 Star(DE3)pLysS 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率达 10^7 cfu/μg DNA。

基因型: F⁻ *ompT hsdS_B(r_B⁻ m_B⁻) gal dcm rne131 (DE3)pLysS (Cam^R)*

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°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 700μl 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。

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°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°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. BL21 Star(DE3)pLysS 菌株携带 pLysS 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 34 μg/ml 氯霉素, 以防质粒丢失。