



## BL21trxB(DE3) Chemically Competent Cell 产品说明书

### 产品规格 (CAT#: YC210)

BL21trxB(DE3)感受态细胞:	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 trxB(DE3)感受态细胞菌株是常用的目的蛋白表达菌株,该菌株有利于目的蛋白二硫键在细胞质中的形成,能有效提高含二硫键蛋白的正确折叠和表达。BL21trxB 宿主菌拥有与 AD494 菌株相同的硫氧还蛋白还原酶突变体 (thioredoxin reductase mutation, TrxB) 突变体。该菌株来源于 BL21 菌株。由于含有 trxB 蛋白的宿主菌能够有效提高细胞质内二硫键形成,他们能够提高目的蛋白的正确折叠率。该宿主菌具有卡那霉素抗性,所以这个菌株只能用于氨苄霉素抗性的质粒表达。DE3 是溶源性的 λDE3,所以在 lacUV5 启动子下携带有 T7 RNA 聚合酶的染色体拷贝。该菌株适用于 pET 系列载体,及其他 T7 启动子系列载体。BL21 trxB(DE3)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/μg DNA。

**基因型:** F-ompT hsdSB(rB- mB-)gal dcm trxB15:kan(de3)

### 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.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。