



C41(DE3) Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC217)

| | |
|-----------------------------------|--------------|
| C41(DE3) : | 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

C41(DE3)菌株能有效表达来源于各个物种包括细菌酵母, 植物, 病毒和动物等多个物种的有毒蛋白, 这是因为该菌的基因存在突变, 可以包容有毒蛋白的表达。C41(DE3)来源于 BL21(DE3), 含有一个基因突变, 能够降低 T7RNAP 的酶活力, 所以能够阻止表达有毒蛋白细胞的死亡。正如标准的 BL21(DE3)菌株 C41(DE3)是λDE3 的溶源性菌株, 它在 lacUV5 启动子下游含有 T7RNA 聚合酶基因, 适合表达克隆于 T7 启动子表达载体上的基因。但是, C41(DE3)存在 Ion 和 ompT 蛋白酶的缺陷, 而且蛋白表达量比 BL21(DE3)稍低。C41(DE3)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 hsdSB (rB- mB-) gal dcm (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。