



C41(DE3)pLysS Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC218)

C41(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

C41(DE3) PlysS 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) PlysS 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) PlysS 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。C41(DE3) PlysS 携带有一个氯霉素抗性质粒, 该质粒能够表达少量的 T7 溶菌酶。这个酶是 T7RNA 聚合酶的天然抑制剂。这些宿主菌能够有效抑制 T7RNA 聚合酶在诱导剂诱导前的表达水平, 所以能够稳定菌株去编码特定的独立蛋白。在培养细菌的过程中, 应该加入 34 μg/mL 的氯霉素来维持 pLysS 质粒的存在。但是, C41(DE3) PlysS 存在 lon 和 ompT 蛋白酶的缺陷, 而且蛋白表达量比 BL21(DE3)稍低。C41(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 hsdSB (rB- mB-) gal dcm (DE3) plysS(CmR)

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。