



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

产品规格 (CAT#: YC225)

Tuner(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

Tuner(DE3)菌株是 BL21 菌株的 lacZY 基因 (半乳糖苷透性酶基因)突变株,此突变导致 IPTG 以均一速度进入体系中大肠杆菌的每个细胞,产生更加严格、均一的浓度依赖。将具有氯霉素抗性的 pLysS 质粒导入 Tuner(DE3)细胞中即是 Tuner(DE3) pLysS ,pLysS 表达 T7 溶菌酶,T7 溶菌酶可以与 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,非常适合毒性蛋白的原核表达。该菌株染色体整合了λ噬菌体 DE3 区 (DE3 区含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶),可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶,可用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。Tuner(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 lacY1 (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°C180rpm 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. Tuner(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。