



## T7 Express Chemically Competent Cell 产品说明书

### 产品规格 (CAT#: YC226)

T7 Express :	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

NEB 货号 C2566 对应产品, T7 Express 菌株为大肠杆菌 BL21 增强型菌株, 为 Lon 和 OmpT 蛋白酶缺陷型, 主要适用于含有 T7 启动子的原核表达载体 (如 pET 等) 的蛋白表达, 同样适用于需要大肠杆菌 RNA 聚合酶来转录 RNA 的非 T7 启动子的表达载体 (如 pGEX 等)。该菌株区别于 BL21( DE3 ) 菌株的优势在于 T7 RNA 聚合酶基因整合在细菌染色体上的 lac 操纵子区域, 基因组中无λ前噬菌体序列, 并具有抗 T1 噬菌体感染等特点。T7 表达感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率大于  $10^8$  cfu/μg DNA。

**基因型 :** fhuA2 lacZ::T7 gene1 [lon] ompT gal sulA11 R(mcr-73::miniTn10--TetS)2 [dcm] R(zgb-210::Tn10--TetS) endA1 (mcrCmrr)114::IS10

### 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。