



## T7pLysY 感受态细胞 Chemically Competent Cell 产品说明书

### 产品规格 (CAT#: YC227)

T7pLysY :	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 C3010 对应产品, T7pLysY 菌株为大肠杆菌 BL21 增强型菌株, 为 Lon 和 OmpT 蛋白酶缺陷型, 用于毒性或非毒性蛋白的表达。该菌株区别于 BL21(DE3)pLysS 和 BL21(DE3)pLysE 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, LysY 表达的 T7 溶菌酶保留了对 T7 RNA 聚合酶的抑制作用但缺失了水解细胞壁的酰胺酶活性, 有利于降低基因的背景表达和避免诱导过程中细菌的裂解, 菌株具有抗 T1 噬菌体感染等特点。T7pLysY 表达感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率达  $10^7$  cfu/μg DNA。

### 基因型 :

fhuA2lacZ::T7gene1[lon]ompTgalsulA11R(mcr-73::miniTn10--TetS)2[dcM]R(zgb-210::Tn10--TetS)endA1D(mcrC-mrr)114::IS10 lysY (CamR)

### 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。