



Shuffle T7-K12 Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC228)

Shuffle T7-K12 :	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 C3026 对应产品, Shuffle T7-K12 菌株来源于大肠杆菌 K12 菌株, 适用于 T7 启动子启动的蛋白表达。细胞内组成型表达的二硫键异构酶 DsbC 不仅有利于表达蛋白形成正确的二硫键, 并具有分子伴侣的功能, 帮助不含二硫键的蛋白正确折叠。T7 RNA 聚合酶基因整合在细菌染色体上的 lac 操纵子区域, 组成型表达的 lac 阻遏蛋白能降低基因的背景表达, 有利于毒性蛋白的表达, 没有λ前噬菌体序列, 具有抗 T1 噬菌体感染特点。Shuffle T7-K12 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率大于 106 cfu/μg DNA。

基因型: F' lac, pro, lacIq /^Δ(ara-leu)7697 araD139 fhuA2 lacZ::T7 gene1^Δ(phoA) PvuII phoR ahpC* galE (or U) galK λatt::pNEB3-r1-cDsbC (SpecR, lacIq)^ΔtrxB rpsL150(StrR)^Δgor^Δ(malF)3

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。

7. 由于此感受态细胞转化效率较低; 为了更好的实验效果, 建议至少转入 100ng 以上质粒, 取 1/3 以上复苏后菌液涂板; 否则有可能转化失败。