



NovaBlue(DE3) Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC231)

NovaBlue(DE3) :	100μl/支
pUC19 (control vector, 0.1ng/μl):	5μl
保存条件(保质期) :	-80℃ (6 个月)

产品介绍

NovaBlue(DE3)来源于 K12 菌株, 具有极高的转化效率, 是转化效率最高的原核表达菌株, 可同时用于普通质粒的构建和蛋白的原核表达。NovaBlue(DE3)菌株染色体 DNA 中整合了λ噬菌体 DE3 区, 使得 NovaBlue(DE3)菌株可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 广泛用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。NovaBlue(DE3)菌株具有四环素抗性, *endA1* 和 *recA1* 的突变有利于插入 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取; *lacZΔM15* 的存在使 NovaBlue(DE3)可用于蓝、白斑筛选。NovaBlue(DE3)感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率达 10^8 cfu/μg DNA。

基因型: F⁻ [*proA*⁺B⁺ *lacI*^q *ZΔM15*::*Tn10*

(Tet^R)] *endA1* *hsdR17*(*r_{k12}*⁻, *m_{k12}*⁺) *supE44* *thi*⁻¹ *recA1* *gyrA96* *relA1* *lac*(DE3)

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℃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℃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℃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℃, 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。