



BL21-Gold(DE3)Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC237)

BL21-Gold(DE3) :	100 μ l/支
pUC19 (control vector , 0.1ng/ μ l):	5 μ l
保存条件(保质期) :	-80 $^{\circ}$ C (6 个月)

产品介绍

BL21-Gold(DE3)是 BL21 系列细胞的升级版, 提升了转化效率并且能够产生高质量的小提 DNA。BL21-Gold(DE3)是利用 T7 RNA 聚合酶启动进行蛋白表达的载体的高效表达菌株。本宿主菌来源于 E.coli B, 缺乏 Lon 蛋白酶和 OmpT 蛋白酶, 能够有效防止目标蛋白降解。BL21-Gold(DE3)感受态细胞具有 Hte 表型, 该表型增加了细胞的质粒转染效率。另外, 菌株内的 endonuclease I (endA) 编码基因被失活了, 而该蛋白酶(endA)能够在大部分的质粒小提时, 快速降解质粒 DNA。这两个菌株明显特征, 使得该菌株能够直接用来扩增克隆蛋白表达构建质粒。由于在未使用 IPTG 进行诱导表达时, 宿主菌内仍然有少量 T7 聚合酶合成, 这能够导致少量的目的蛋白合成。如果目的蛋白是毒性蛋白的话, 会抑制细菌生长, 甚至导致细菌死亡。所以本菌株不适合表达对细菌有毒性或生长抑制的蛋白。

BL21-Gold(DE3)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/ μ g DNA。

基因型 : E. coli B F- ompT hsdS(rB- mB-)dcm+ Tetr gal λ (DE3) endA Hte

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 $^{\circ}$ 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 700 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基(不含抗生素), 混匀后置于 37 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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。