



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

产品规格 (CAT#: YC238)

BL21-Gold (DE3)pLysS :	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

BL21 Gold(DE3)菌株使用的是以 T7RNA 聚合酶为基础的高水平表达系统,如 BL21(DE3) ,BL21 Gold(DE3)也对有毒性的蛋白表达进行严格的控制。当和 CE6 噬菌体一起使用的时候, BL21 Gold(DE3)对蛋白的控制表达最严格。BL21 Gold(DE3)也可用于没有 T7RNA 聚合酶的表达系统。pLysS 质粒能够产生 T7 溶菌酶,可以有效降低目的基因的基础表达水平。pLysS 质粒使得该菌株具有氯霉素抗性。pLysS 质粒的起始复制位点是 p15 Origin, 这使得该质粒能够和 pUC-及 pBR322-衍生的质粒互相共存。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/μg DNA。

基因型 : E. coli B F- dcm+ Hte ompT hsdS(rB- mB-) gal & lambda; (DE3) [pLysS Camr]a endA Tetr

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. 除复苏培养基为无抗生素外,其余所用培养基均应含有 34 μg/ml 氯霉素以防质粒丢失。

