



BLR (DE3) Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC240)

BLR (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

BLR 来源于 BL21, 是 recA 重组酶缺陷型菌株, 同时也是 Lon 和 OmpT 蛋白酶缺陷型菌株。BLR(DE3) 含有溶源的 λ DE3 序列。可表达 T7 RNA 聚合酶, 故适用于 pET 系列载体及其他 T7 启动子系列的载体。此外, 该菌株可以显著提升质粒单体的产量, 从而有助于提高含有重复 DNA 序列的质粒的稳定性, 也能提高那些容易导致噬菌体 DE3 序列丢失的质粒的稳定性。BLR (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: F- ompT hsdSB (rB- mB-) gal lac ile dcm Δ (srl-recA)306::Tn10 (TetR) (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 $^{\circ}$ 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。