



T7 Express lysY/lq Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC245)

| | |
|--|-------------|
| T7 Express lysY/lq Chemically Competent Cell : | 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 C3013 对应产品, T7 Express LysY/lq 菌株适合于高效转化和蛋白表达的化学活性大肠杆菌细胞。lacIq 对表达的严格 控制允许克隆潜在毒性基因, 溶菌酶控制 T7 RNA 聚合酶可以表达毒性基因, LysY 是 T7 溶菌酶 的一个变体, 缺乏任何酰胺酶活性, 因此细胞在诱导过程中对裂解不太敏感。溶菌酶/lacIq 质粒的 维持不需要抗生素选择, 缺乏蛋白酶 Lon 和 OmpT 。抗噬菌体 T1 (fhuA2) 。不限制甲基化 DNA(McrA-、McrBC-、EcoBr-m-、Mrr-)。 pUC19 质粒检测转化效率达 10^7 cfu/μg DNA。

基因型:

MiniF lysY lacI^q(Cam^R) / fhuA2 lacZ::T7 gene1 [lon] ompT gal sulA11 R(mcr-73::miniTn10--Tet^S)2 [dcm] R(zgb-210::Tn10--Tet^S) endA1 Δ(mcrC-mrr)114::IS10

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°C180rpm 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), 无需氯霉素。
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。