

BL21 Star(DE3) 化学转化感受态使用说明

◇ 产品简介

本品为大肠杆菌 BL21 Star(DE3){基因型: F-*ompT hsdS_B(r_B⁻ m_B⁻) gal dcm rne131 (DE3)*}制作的感受态。BL21 Star (DE3) 菌株来源于 BL21 (DE3), 含有 *rne131* 突变 (RNaseE 基因), RNaseE 基因的突变降低了内源 RNase 的积累, 增强菌株细胞内 mRNA 的稳定性, 从而提高异源蛋白的表达水平。主要适用于 T7 启动子表达载体 (如 pET 系列) 的高水平蛋白表达, 同时含有大肠杆菌 RNA 聚合酶, 也可用于非 T7 启动子表达载体 (pGEX, pMAL 等) 的蛋白表达。由于 BL21 Star (DE3) 菌株的异源基因基础表达水平较高, 所以不适合毒性蛋白的表达。BL21 Star (DE3) 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 >10⁸ cfu/μg DNA。

◇ 产品规格

品名	货号	规格
BL21 Star(DE3)化学转化感受态	EE010-H-S	10×100 μL
	EE010-H-M	50×100 μL

保存条件: -80℃ (12 个月)

◇ 转化方法

1. 从-80 °C 冰箱中取出感受态细胞, 放入冰中 5 min, 加入目的质粒 1-2ul, 轻弹使混合均匀, 并在冰中孵育 30min;
2. 放 42°C 水浴锅中热激 90 s, 立即插入冰中静置 2-3 min;
3. 添加 900 μL 900 μL 睿必特™ E. coli 快速复苏液 (或是不含抗性的 LB 液体培养基), 37°C 摇床 220 rpm 培养 60 min;
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 留取 100 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 平板上, 37°C 培养箱放置过夜。

◇ 注意事项

1. 感受态细胞解冻后应立即使用, 不可在冰中放置过长时间。
2. 不能用移液器抽吸感受态细胞, 用手指轻弹混匀即可。
3. 诱导蛋白表达时, IPTG 浓度可选 (0.1-2 mM 均可)。