

## BL21（DE3）pLysS 化学转化感受态使用说明

### ◇ 产品简介

本品为大肠杆菌 BL21 (DE3)pLysS [基因型: F<sup>-</sup> *ompT hsdS<sub>B</sub>(<sub>TB</sub><sup>-</sup> m<sub>B</sub><sup>-</sup>) gal dcm(DE3) pLysS Cam<sup>R</sup>*]制作的高效感受态。该菌整合了λ噬菌体 DE3 区（该区域含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶）；同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶，可用于 PET、pGEX 和 pMAL 等质粒的蛋白表达；菌株携带有 pLysS 质粒，具有氯霉素抗性，pLysS 含有表达 T7 溶菌酶的基因，T7 溶菌酶可以作用于大肠杆菌细胞壁上的肽寡聚糖，溶解大肠杆菌，降低目的基因的背景表达，但不干扰 IPTG 诱导的表达，适合表达毒性蛋白；pUC19 质粒检测转化效率>10<sup>7</sup> cfu/μg DNA。

### ◇ 产品规格

品名	货号	规格
BL21（DE3）pLysS 化学转化感受态	EE009-H-S	10×100 μL
	EE009-H-M	50×100 μL

-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℃ 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℃ 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℃ 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）。