

BL21(DE3) 化学转化感受态使用说明

产品规格

品名	货号	规格
BL21(DE3)化学转化感受态	EE008-H-S	10×100 μL
	EE008-H-M	50×100 μL

保存条件: -80°C (12个月)

产品简介

BL21(DE3)菌株用于高效表达克隆于含有噬菌体 T7 启动子的表达载体(如 pET 系列)的基因。λ噬菌体 DE3 区含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶, 该区整合于 BL21 的染色体上, 所以称为 BL21(DE3)。可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。BL21(DE3)感受态细胞转化 pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率>10⁷ cfu/μg DNA。

基因型

F- ompT hsdSB(rB- mB-) gal dcm(DE3)

转化方法

1. 从-80 °C冰箱中取出感受态细胞, 放入冰中5min, 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900ul 睿必特™ E.coli快速复苏液 (或不含抗性的 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100μl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)。