

BLR(DE3) 化学转化感受态使用说明

产品规格

品名	货号	规格
BLR(DE3)化学转化感受态	EE003-H-S	10×100 μL
	EE003-H-M	50×100 μL

保存条件: -80℃ (12 个月)

产品简介

BLR(DE3) 是 BL21(DE3) 的 *recA*⁻ 衍生株, 核心优势是稳定含重复序列/易重组的质粒, 同时保留 T7 高效表达与蛋白酶缺陷特性。该菌株染色体整合了λ噬菌体 DE3 区 (DE3 区含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶, 整合在大肠杆菌的染色体上), 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。BLR(DE3) 菌株具有四环素抗性。BLR(DE3) 感受态细胞由 pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 >10⁸ cfu/μg DNA。

基因型

F- ompT hsdS_B(r_B- m_B-) gal dcm (DE3) Δ(srl-recA)306::Tn10 (Tet^R)

转化方法

1. 从-80℃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℃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TM E.coli快速复苏液 (或不含抗性的 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℃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)。