

ClearColi BL21(DE3) 化学转化感受态使用说明

产品规格

品名	货号	规格
ClearColi BL21(DE3) 化学转化感受态	ECO43H-S	10×100 μL
	ECO43H-M	50×100 μL

保存条件: -80℃ (12 个月)

产品简介

ClearColi BL21(DE3)来源于 BL21(DE3), 在 BL21(DE3)中引入 8 个独立基因突变, 导致 ClearColi BL21(DE3)细胞壁外层的脂多糖 (LPS) 被修饰, LPS 的低聚糖链被删除, 同时 LPS 的两个酰基链也被删除, 破坏了 ClearColi BL21(DE3)大肠杆菌的内毒素信号通路; 正常的 LPS 含有六个酰基链, 含有六个酰基链的 LPS 可以被受体 TLR4 识别, 激活内毒素反应, 而只含有四个酰基链的 LPS 不能被 TLR4 识别, 因此不触发内毒素反应。从 ClearColi BL21(DE3)细胞中提取的蛋白或质粒 DNA 中的内毒素含量极低, 提取的无内毒素蛋白或多肽广泛应用于哺乳动物试验, 疾病治疗等。ClearColi BL21(DE3)同时为 Lon 蛋白酶和膜外蛋白酶 OMPT 的缺陷型菌株, 这两种酶的缺失有效防止异源蛋白在大肠杆菌体内的降解, 提高了目标蛋白的稳定性和表达量。 λ 噬菌体 DE3 区含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶, 该区整合于 ClearColi BL21(DE3)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。ClearColi BL21(DE3)感受态细胞由 pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 $>10^7$ cfu/ μ g DNA。

基因型

F⁻ ompT hsdSB(rB-mB-) gal dcm lon λ (DE3 [lacI lacUV5-T7 gene 1 ind1 sam7 nin5]) msbA148 Δ gutQ Δ kdsD Δ lpxL Δ lpxM Δ pagP Δ lpxP Δ leptA

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™ 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 100 μ l 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 $^{\circ}$ 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)。