

Lemo21(DE3) 化学转化感受态使用说明

产品规格

品名	货号	规格
Lemo21(DE3) 化学转化感受态	AT015-H-S	10×100 μL
	AT015-H-M	50×100 μL

保存条件: -80°C (12 个月)

产品简介

Lemo21(DE3)菌株适用于毒性蛋白, 膜蛋白, 及其他容易形成包涵体的蛋白的原核表达; 缺少 Lon 蛋白酶和 OmpT 蛋白酶, 减少对重组蛋白的降解; fhuA2 突变赋予 Lemo21(DE3) 菌株对噬菌体 T1 的抗性。大肠杆菌中的膜蛋白表达和输出都受到 Sec 转位酶转运能力的限制, 如果 T7 RNA 聚合酶的活力过高, 超过 Sec 转位酶的转运能力, 会导致蛋白毒性产生或包涵体的形成, pLemo 质粒(具有氯霉素抗性)含有一个鼠李糖诱导的 T7 溶菌酶表达框, 可以高效表达 T7 溶菌酶, T7 溶菌酶是 T7 RNA 聚合酶的抑制剂, 可抑制 T7 RNA 聚合酶的转录活性, 降低目标蛋白的合成速度, 减少包涵体的形成, 提高毒性蛋白, 膜蛋白, 及其他容易形成包涵体的蛋白的原核表达成功率。Lemo21(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。Lemo21(DE3)感受态细胞由 pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率>10⁷ cfu/μg DNA。

基因型

fhuA2 [lon] ompT gal (λ DE3) [dcm] ΔhsdS / pLemo(Cam^R)

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TM 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)。