

## BL21(DE3) pLysS 感受态细胞说明书

货号: C1500

规格: 10×100ul / 20×100ul

保存: -70℃保存, 干冰运输。自收货之日起液氮保存至少一年, -70℃保存至少 6 个月。

### 产品简介:

本公司生产的 BL21 (DE3) pLysS 感受态细胞是采用大肠杆菌 BL21 (DE3) pLysS 菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测, 转化效率可达  $10^7$ , -70℃保存 6 个月转化效率不发生改变。

**基因型:** F-, ompT, hsdSB(rB-mB-), dcm, gal(DE3), pLysS, Cmr

**特点:** 该菌株带有质粒 pLysS, 因此具有氯霉素抗性。质粒 pLysS 含有表达 T7 溶菌酶的基因, 能够降低目的基因的背景表达水平, 但不干扰目的蛋白的表达。该菌适合表达毒性蛋白和非毒性蛋白。

### 操作方法: (以下各步骤均为无菌操作)

- 1、将感受态细胞置于冰上融化, 以下实验以 100ul 感受态细胞为例。
- 2、向感受态细胞悬液中加入需转化的目的 DNA, 注意目的 DNA 的体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一, 轻轻旋转离心管以混匀内容物, 冰浴放置 30 分钟。
- 3、将离心管置于 42℃水浴中放置 60-90 秒, 然后快速转移到冰浴中放置 2-3 分钟, 不要摇动离心管。
- 4、向离心管中加入 500ul 无菌无抗的 SOC 或 LB 培养基, 37℃ 150rpm 振荡培养 1 小时。目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
- 5、取适量已转化的感受态细胞涂布含相应抗生素的 SOC 或 LB 平板, 37℃倒置培养 12-16 小时。涂布用量可根据具体实验来调整, 如转化的 DNA 总量较多, 可取 100ul 左右的转化产物涂板; 反之, 如转化的 DNA 总量较少, 可取 200-300ul 的转化产物涂板。如果预计的克隆较少, 可通过离心后吸除部分培养液, 悬浮菌体后将其涂布于一个平板中。涂布剩余的菌液可 4℃保存, 如果次日的转化菌落数过少可以将剩下的菌液再涂布新的平板。

### 注意事项:

- 1、实验过程中应严格无菌操作, 防止其它 DNA 或杂菌的污染, 避免为以后的筛选、鉴定带来影响。
- 2、感受态细胞不可反复冻融, 否则其转化效率将会降低。
- 3、转化时, 转化效率与外源 DNA 的浓度在一定范围内成正比, 但当加入的外源 DNA 量过多或体积过大反而会降低转化效率。转化时 DNA 体积要小于感受态细胞体积的十分之一。
- 4、为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接产物, 以重新转化, 将损失将到最低。

### 相关产品:

- I1020 IPTG 溶液 (50mg/ml)
- K1030 Kanamycin (100mg/ml) 卡那霉素
- L1015 LB 固体培养基(干粉)
- L1020 SOC 液体培养基(干粉)
- X1010 X-gal(20mg/ml)