



BL21(DE3) Chemically Competent Cell

● 产品规格

货号: KTSM104L

规格: 100 μ L/支

pUC19(control vector, 100 pg/ μ L): 5 μ L

保存条件: -80°C

有效期: 6 个月

运输: 干冰运输

● 基因型

E.coli B F⁻ ompT gal dcm lon hsdS_B(r_B⁻mg⁻) [malB⁺]_{K-12}(λ ^S)

● 产品说明

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(pET 系列)的基因。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) 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率 $>10^7$ cfu/ μ g DNA。

● 操作方法

一、热激转化法

1. 从 -80°C 冰箱取出感受态细胞冰浴融化后, 吸取 100 μ L 感受态细胞转移到 -20°C 过夜预冷的摇菌管中, 加入质粒或连接产物, 轻轻混匀, 冰浴 30 分钟。
2. 42°C 水浴热激 60 秒, 迅速放回冰中并静置 2 分钟, 该过程不要摇动摇菌管。
3. 向摇菌管中加入 900 μ L 37°C 温浴的 SOC 或 LB(SOC 培养基可提高 2-3 倍转化效率), 37°C、180 rpm、45 分钟复苏菌种。
4. 根据实验要求(质粒), 吸取不同体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 LB 琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。将平板置于 37°C 至液体被吸收, 倒置平板, 37°C 过夜培养。

二、10 分钟快速转化法

注: 在使用卡那霉素, 四环素等作为筛选抗性时, 需要在 SOC 培养基中复苏以提高转化效率, 当使用氨苄青霉素作为筛选抗性时, 该步骤可以省略。感受态细胞-DNA 混合物在冰上孵育 5-10 分钟后加入 4 倍



体积的 37°C 温浴的 SOC 培养基, 在 37°C 180 rpm 孵育 1 小时, 然后转移到 37°C 预热的 LB 培养基上。

1. 提前 15 分钟将用到的筛选培养基平板拿到 37°C 预热。
2. BL21(DE3) 感受态细胞从 -80°C 拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的 DNA (质粒) 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀, 冰中静置 5 分钟。
3. 用 200 μ L 枪将感受态细胞-DNA 混合物转移到已经 37°C 预热的 LB 培养基上, 涂均匀, 表面无水渍。
4. 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。

● 注意事项

1. 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。
2. 避免反复化冻。
3. 避免移液枪吹吸。
4. 整个操作过程要轻柔。
5. 重组产物不建议用 10 分钟快速转化法。
6. 表达感受态不建议用于重组连接产物转化。

声明: 本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为 食品、化妆品或家庭用品等。