



HZ T7 (DE3) Competent感受态细胞

●产品概述：

T7 表达感受态细胞为大肠杆菌 BL21 增强型菌株，为 Lon 和 OmpT 蛋白酶缺陷型，主要适用于含有 T7 启动子的原核表达载体（如 pET 等）的蛋白表达，同样适用于需要大肠杆菌 RNA 聚合酶来转录 RNA 的非 T7 启动子的表达载体（如 pGEX 等）。该菌株区别于 BL21（DE3）菌株的优势在于 T7 RNA 聚合酶基因整合在细菌染色体上的 lac 操纵子区域，基因组中无λ前噬菌体序列，并具有抗 T1 噬菌体感染等特点。

基因型： fhuA2 lacZ::T7 gene1 [lon] ompT gal sulA11R(mcr-73::miniTn10--TetS)2 [dcm] R(zgb-210::Tn10--TetS)endA1 Δ(mcrC-mrr)114::IS10

●产品特点：

- 在 Lac 操纵子上有 T7 RNA 聚合酶，无λ前噬菌体
- Lon 和 OmpT 蛋白酶缺失
- 不受限于 DNA 是否甲基化（McrA-, McrBC-, EcoBr-m-, Mrr-）
- 转化效率：高效级：0.6~1×10⁹ cfu/μg pUC19 DNA
- 抗噬菌体T1（fhuA2）
- 不含动物产品

●质量控制分析：

转化效率：按照提供的高效方案，将100pg pUC19质粒DNA用于转化一管T7 Express Competent E.coli。

在LB-氨苄青霉素平板上于37℃过夜温育后，形成0.6~1×10⁹个菌落/μg。

还测试了未转化的细胞对噬菌体φ80的抗性，对噬菌体T1的抗性的标准测试，以及对氨苄青霉素，氯霉素，卡那霉素，壮观霉素，链霉素和四环素的敏感性。

●使用说明（无菌操作）：

高效转化方案：

- 1、将感受态细胞置于冰上融化；以下实验以 100 μl 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 45 秒，然后快速转移到冰浴中放置 5 分钟，注意不要摇动离心管；



4、向离心管中加入500ul无菌无抗的SOC或LB培养基, 37°C 180rpm振荡培养45min。目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏;

注: 如果抗性为卡那霉素, 氯霉素抗性, 链霉素抗性, 建议复苏时间延长至60分钟。

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°C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。过多菌液可以抑制细菌生长。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°C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。

五分钟转化方案:

方案的简化仅产生与标准方案相比约10%的转化效率, 可适用于对于转化体总数减少可接受的应用。

遵循上面的高效转化方案, 并进行以下更改:

1.步骤2和3冰浴时间减少到2分钟。

2.完全省略氨苄青霉素抗性质粒的生长(步骤4)或适当减少其他选择性培养基的生长时间。

●注意事项:

1、感受态细胞应在-80°C下保存, 不可多次冻融和放置时间过长, 以免降低感受态细胞的转化效率。

2、为了转化效率的最大化, 细胞和DNA质粒在冰上的孵育时间应在30分钟。每缩短10分钟, 转化效率将降低两倍。

3、涂板的冷热干湿状态与转化效率无关。但热的, 干的板, 将会使培养基更容易展开, 使克隆更快。

●包装规格及保存条件:

制品内容	货号	规格	保存条件
T7 Competent 感受态细胞	58.009	200 μ l*6	-80°C
Control DNA pUC19, 0.05 ng/ μ l		10 μ l	-80°C