



## BL21 ( DE3 ) 感受态细胞

### ●产品概述：

BL21 (DE3) 感受态细胞是采用大肠杆菌 BL21 (DE3) 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  $10^7$ ， $-70^{\circ}\text{C}$  保存几个月转化效率不发生改变。

BL21(DE3)菌株适合表达非毒性蛋白。该菌株是以 T7 RNA 聚合酶为表达系统的外源基因蛋白高效表达的宿主。T7 噬菌体 RNA 聚合酶基因的表达受 $\lambda$ 噬菌体 DE3 区的 lacUV5 启动子调控，该区整合在 BL21 染色体上。

**基因型:** F\_ ompT hsdSB (rB\_mB\_) dcm gal (DE3)

### ●产品特点：

- 转化效率可达 $10^7$
- 可用于非毒性蛋白表达
- 长时间保存于 $-80^{\circ}\text{C}$ ，转化效率不发生改变

### ●使用说明（无菌操作）：

1、将感受态细胞置于冰上融化；

以下实验以 100  $\mu\text{l}$  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  $42^{\circ}\text{C}$  水浴中放置 45 秒，然后快速转移到冰浴中放置 2-3 分钟，注意不要摇动离心管。；

4、向离心管中加入 500  $\mu\text{l}$  无菌无抗的 SOC 或 LB 培养基， $37^{\circ}\text{C}$  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， $37^{\circ}\text{C}$  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 100  $\mu\text{l}$  左右的转化产物涂板；反之，如转化的 DNA 总量较少，可取 200-300  $\mu\text{l}$  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  $4^{\circ}\text{C}$  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。



●**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、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。
- 3、转化率的计算:转化率=产生菌落的总数/铺板 DNA 总量。
- 4、混入质粒时应轻柔操作。
- 5、转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
- 6、转化所有步骤均在无菌条件下操作。
- 7、感受态细胞应在-80℃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。

●**包装规格及保存条件:**

制品内容	货号	规格	保存条件
BL21 (DE3) 感受态细胞	58.002	100 $\mu$ l*6	-80℃
Control DNA pUC19, 0.1 ng/ $\mu$ l		10 $\mu$ l	-80℃