



## BL21 RIL ( DE3 ) 感受态细胞

### ●产品概述：

BL21 RIL ( DE3 ) 感受态细胞来自高性能Stratagene BL21-Gold感受态细胞系。这些细胞能够在大肠杆菌中高效表达异源蛋白质。

在大肠杆菌中有效产生异源蛋白质通常受限于衍生异源蛋白质的生物体中丰富的某些tRNA的稀有性。异源蛋白的强制高水平表达可以耗尽稀有tRNA的库并停止翻译。BL21-CodonPlus菌株经过工程改造，含有额外的稀有tRNA的基因拷贝，这些额外引入的tRNA可以促进大肠杆菌中异源蛋白质的翻译，使得在常规BL21菌株中表达差的许多异源重组基因在BL21 RIL ( DE3 ) 细胞中高水平表达。

BL21 RIL ( DE3 ) 细胞含有argU, ileY和leuW tRNA基因的额外拷贝。这些基因编码分别识别精氨酸密码子AGA和AGG，异亮氨酸密码子AUA和亮氨酸密码子CUA的tRNA。

**tRNA基因型:** argU (AGA, AGG), ileY (AUA), leuW (CUA)

### ●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  $\mu$ 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 $^{\circ}$ 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500ul无菌无抗的SOC或LB培养基，37 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 RIL (DE3) 感受态细胞	58.010	100 $\mu$ l*6	-80℃
Control DNA pUC19, 0.1 ng/ $\mu$ l		10 $\mu$ l	-80℃