

产品介绍

本品为使用大肠杆菌 BL21 (DE3) 菌株制备的化学转化超级感受态细胞，转化效率超过 10^7 cfu/ μ g pUC19 DNA。适用于 T7 启动子系统的表达载体 (如 pET 系列)，基因型 F⁻ ompT hsdS (rB⁻mB⁻) gal dcm (DE3)。

产品组成

组分	CC101 (10 支)	CC101 (20 支)
BL21 (DE3) Chemically Competent Cell	10 × 100 μ l	20 × 100 μ l

贮藏条件

本产品应置于 -80°C 储存，勿置于 -20°C 或液氮中保存

产品特性

- ❖ BL21 (DE3) 品系，以 T7 RNA 聚合酶为表达系统的高效蛋白表达宿主。
- ❖ T7 噬菌体 RNA 聚合酶位于噬菌体 DE3 区，该区整合于 BL21 的染色体上。
- ❖ 适合非毒性蛋白重组表达。

质量控制

- ❖ 无外源质粒 DNA 残留
- ❖ 转化效率超过 10^7 cfu/ μ g pUC19 DNA

使用方法

1. 在冰上解冻感受态细胞 (-80°C 保存)。
2. 将待转化 DNA 加入到 100 μ l 感受态细胞中，轻弹管壁混匀 (请勿振荡混匀)，冰上静置 30 min。
3. 42°C 水浴热激 45 sec 后，立即置于冰上冷却 2-3 min。
4. 加入 900 μ l SOC 或 LB 培养基 (不添加抗生素)，37°C 摇菌 1 h (转速 200-250 rpm)，使菌复苏，抗性基因表达。
5. 将相应抗性的 LB 平板固体培养基在 37°C 培养箱中预热。
6. 5,000 rpm 离心 5 min，弃掉 900 μ l 上清。用剩余培养基将菌体重悬，用无菌涂布棒在含有正确抗性的平板上轻轻涂匀，室温正放 10 min。
7. 37°C 培养箱中倒置培养 12-16 h。

注意事项

- ❖ 感受态细胞冰水浴中解冻后应立即使用
- ❖ 待转化 DNA 加入体积不要超过感受态细胞体积的 1/10。
- ❖ 待转化 DNA 加入感受态细胞后，请勿用移液枪吹打，用枪头轻轻旋转即可。
- ❖ 为确保最高效率转化，整个操作过程应保持低温，动作应轻缓。

附录

常用抗生素浓度

抗生素类型	工作浓度
Ampicillin	100 µg/ml
Carbenicillin	100 µg/ml
Chloramphenicol	33 µg/ml
Kanamycin	30 µg/ml
Streptomycin	25 µg/ml
Tetracycline	15 µg/ml

DNA 中的转化抑制物及去除方式

转化抑制物	去除方式
Detergents	乙醇沉淀
Phenol	氯仿抽提及乙醇沉淀
Ethanol or Isopropanol	DNA 溶解前彻底晾干
PEG	柱式纯化或酚氯仿抽提及乙醇沉淀
DNA binding proteins	柱式纯化或酚氯仿抽提及乙醇沉淀