



BL21(DE3)化学感受态细胞

产品编号: MCC010

产品组成	规格	转化效率
BL21(DE3)化学感受态细胞	10×0.1ml	$\geq 10^7$
pUC19 control plasmid(0.1ng/ μ l in TE)	10 μ l	---

运输条件

感受态细胞使用干冰运输。请检查感受态是否为冻存状态，若不是请拒绝接收。

储存条件

感受态细胞必须在干冰运输后立即置于-80℃冻存，不能保存于液氮中。感受态细胞对温度变化非常敏感，即使是很小的温度变化（从一个冰箱到另一个冰箱的转移）都会使得其转化效率下降。

产品检测

以 100 μ l 的感受态细胞转化 0.1ng/ μ l pUC19 为阳性对照，以不加质粒的作为阴性对照，操作过程同下述转化步骤。转化后，以 50 μ l 的转化物涂板（含有 100 μ g/ml ampicillin）。37℃ 培养过夜，计算转化效率。

BL21(DE3)菌株介绍

基因型: F⁻ ompT gal dcm lon hsdSB(rB⁻ mB⁻) λ (DE3 [lacI lacUV5-T7 gene 1 ind1 sam7 nin5])。

该菌株用于以 T7 RNA 聚合酶为表达系统的高效外源基因的蛋白表达宿主。T7 噬菌体 RNA 聚合酶基因的表达受控于 λ 噬菌体 DE3 区的 lacUV5 启动子，该区整合于 BL21 的染色体上。该菌适合于非毒性蛋白的表达

转化步骤: (请在无菌环境下操作)

- 1、取出置于-80℃的感受态细胞，置于冰上融化。如需分装，请使用预冷的灭菌离心管。
- 2、加入目的 DNA (阳性对照 pUC19 1 μ l，阴性对照不加质粒)，轻轻混匀，静置于冰上 30min (100 μ l 感受态细胞最多可以加入 50ngDNA)。
- 3、将离心管放入 42℃的水浴中热激 90s。快速将离心管转移置冰上，让其冷却 2min。
- 4、加入 900 μ l 预热 (42℃) 的 LB 或 SOC 无抗生素的培养基，将其置于 37℃的摇床上，150r/min 震荡培养 45min-1h，使菌体复苏并表达质粒编码的抗生素抗性标记基因。



5、 将 $\leq 200\ \mu\text{l}$ 已转化的感受态细胞均匀涂布到含相应抗生素的 LB 平板上。将平板置于 37°C 直至液体被吸收（约 30min），倒置平板， 37°C 培养 12-16h。

6、 计算转化率，可参照下列公式计算：

转化子总数 = (菌落数 $\times$ 稀释倍数 $\times$ 转化反应原液总体积) / 涂板菌液体积

转 化 率 = 转化子总数 / 质粒 DNA 加入量 (每 μg 超螺旋质粒 DNA)。

试剂和培养基的制备

SOB 培养基 (1L) 20.0g tryptone 5.0g yeast extract 0.5g NaCl 加去离子水到 1L，高温高压灭菌。使用之前加入 10ml 的过滤灭菌的 1M MgCl_2 、10ml 过滤灭菌的 1M MgSO_4 。	SOC 培养基 (100ml) 使用前在 SOB 培养基中加入 1ml 过滤灭菌的 2M 的葡萄糖溶液
LB 固体培养基 (1L) 10.0g NaCl 20.0g tryptone 5.0g yeast extract 20.0g agar 加去离子水到 1L，使用 5N NaOH 调 pH=7.0，高压灭菌。	LB-Ampicillin 固体培养基 (1L) LB 固体培养基灭菌后置于超静台上，至温度为 55°C ，加入 1ml 过滤灭菌的 50mg/ml Ampicillin

注意事项

- 1、在收到感受态细胞时，请检查感受态是否为冻存状态，若不是请拒绝接收。
- 2、涂板的量视具体 DNA 浓度而定。如预计克隆数较少，请在涂板前，将复苏的菌体（4 步后）4,000rpm 离心 2min，然后吸取 $200\ \mu\text{l}$ 涂布在含有相应抗生素的平板。
- 3、阳性对照的转化效率可以达到 $10^7\ \text{cfu}/\mu\text{g}$ pUC19 以上。对于实验的 DNA 来说，克隆的数量根据转化 DNA 的大小和形态不同而存在差异，通常分子量大的和非超螺旋的 DNA 的克隆比较少。
- 4、此产品仅供实验研究使用，请勿用于人及动物的临床医疗或者是食品添加剂等。