

BL21(DE3)菌株

产品编号: JZ001

菌株说明

该菌株用以 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。

基因型: F⁻ *omp* T *hscA*_B (rB-mB⁻) *gal* *dcm* (DE3)

菌株保存

穿刺菌短期保存于 4℃, 甘油菌可长期保存于-80℃。

感受态细菌制备步骤

1. 从 37℃ 培养 16~24h 的新鲜平板中挑取一个单菌落, 转到 5~10ml 培养液中 300rpm 培养过夜。按照 1: 60 稀释到新鲜培养液, 继续培养 3h。为得到有效转化, 活细胞数不超过 10⁸ 细胞/ml (OD 0.6~0.8)。
2. 冰浴 10min, 于 4℃、4000rpm 离心 10min, 收集细菌。
3. 弃培养液, 用 1ml 冰预冷的 0.1M CaCl₂ 重悬每份沉淀, 放置于冰上 30min。
4. 4℃、4000rpm 离心 10min 以回收细菌, 倒置 1min, 以去除残留的痕量培养液。
5. 每 10ml 初始培养物用 200ul 冰预冷的 0.1M CaCl₂ 重悬每份细菌沉淀。
6. 分装小份并加入终浓度 10~15% 甘油冻存于-70℃。有研究表明 4℃ 在 CaCl₂ 贮存的最初 12~24h 内, 转化效率增加 3~5 倍。

Note: 推荐使用 GK6031 高效感受态细胞制备试剂盒。

质粒转化操作步骤

1. 感受态细菌使用前在冰中解冻。
2. 融解后, 轻柔混合均匀, 取 100 μ l 的感受态细菌移入试管中 (忌 Vortex)。
3. 加入用于转化的 DNA (不超过 10ng, 体积不多于 10ul)。
4. 在冰中放置 30 分钟。
5. 42℃ 放置 90 秒, 忌摇动。
6. 立即移入冰中放置 1~2 分钟。
7. 加入预先保存在 37℃ 的 SOC 培养基 900 μ l。
8. 37℃ 振荡培养 45~60min (160~225 rpm)。
9. 适量涂平板。
10. 37℃ 放置过夜。

Note: 转化时, 除用试管外, 还可以用 Eppendorf tube, 但转化效率稍低。
使用 100 μ l Competent Cells 转化时, DNA 的使用量不能大于 10 ng。
除 SOC 培养基以外, LB 培养基或 fb-broth 也可使用, 但有时效率稍低。

Product Use Limitation:

This product is developed, designed and sold exclusively for research purpose and in vitro use only.

