



# BL21(DE3)/pREP4 感受态细胞

## BL21(DE3)/pREP Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1252

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1252	BL21(DE3)/pREP4 感受态细胞	10×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl) 5μl (质量控制用)。

储存: -70°C 保存六个月。

### 产品介绍:

本公司生产的 BL21(DE3)/pREP4 感受态细胞是采用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, 转化效率高达  $10^7$  cfu/μg DNA 以上。

基因型为: F ompT hsdSB( $r_B^-$  m $_B^-$ ) gal dcm(DE3)

### 产品特点:

BL21(DE3)菌株用于高效表达克隆于含有噬菌体T7启动子的表达载体(如pET系列)的基因。λ噬菌体DE3区含有T7噬菌体RNA聚合酶, 该区整合于BL21的染色体上, 所以称为BL21(DE3)。可同时表达T7 RNA聚合酶和大肠杆菌RNA聚合酶, 用于pET系列, pMAL等质粒的蛋白表达。BL21(DE3)/pREP4蛋白表达菌株含有pREP4质粒, 该质粒通过p15A复制子启动复制, 可以与许多原核表达质粒共存于同一大肠杆菌细胞中; 同时该质粒携带lac I基因, 可高效表达lac 抑制蛋白, 在IPTG诱导前可抑制目标蛋白的本底表达, 特别适合毒性基因的表达。pREP4质粒赋予该菌株卡那霉素抗性。

### 操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:**取感受态细胞置于冰浴中(解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置 30 分钟。  
注意:所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:**将离心管置于 42°C 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- **复苏:**向每个离心管中加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37°C 180rpm 摇床振荡培养 45-60 分钟, 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
- **涂板:**根据实验要求 (质粒, 重组连接产物转化), 吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37°C 培养 12-16 小时。



### 提示：

- 刚刚化冻的细胞，转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下，半小时内活性无明显变化，因此，同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70℃，请避免反复冻融，以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时，请在无菌条件下，根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸，整个过程要轻柔，尽量低温操作。
- 为防止转化实验不成功，可以保留部分连接反应液，以重新转化，将损失降到最低。
- 诱导时，IPTG 浓度可选 (0.1-2 mM 均可)
- 为获得需要量的蛋白，最佳诱导时间，温度，IPTG 浓度需实验者优化。
- **由于此感受态细胞转化效率较低；为了更好的实验效果，建议至少转入 100ng 以上质粒，取 1/3 以上复苏后菌液涂板；否则有可能转化失败。**

# ZOMANBIO