



# BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL 感受态细胞

## BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1209

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1209-1	BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL 感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC1209-2	BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL 感受态细胞	20×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl)10μl (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-CodonPlus(DE3)-RIPL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<sup>-</sup>ompT hsdS(rB<sup>-</sup>mB<sup>-</sup>) dcm<sup>+</sup> Tet<sup>R</sup> gal λ(DE3) endA Hte [argU proL Cam<sup>R</sup>] [argU ileY leuW Strep/Spec<sup>R</sup>]

### 产品特点:

BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL菌株来源于Stratagene公司的BL21-Gold菌株,缺少Lon蛋白酶和OmpT蛋白酶,从而减少对重组蛋白的降解,补充大肠杆菌缺乏的4种稀有密码子(AGA, AUA, CCC, CUA)对应的tRNA(argU, ileY, proL, leuW),提高外源基因,尤其是富含AT-或GC-的真核基因在原核系统中的表达水平。该菌株染色体整合了λ噬菌体DE3区(DE3区含有T7噬菌体RNA聚合酶),可同时表达T7 RNA聚合酶和大肠杆菌RNA聚合酶,可用于pET系列,pGEX,pMAL等质粒的蛋白表达,同时具有四环素,氯霉素,链霉素,壮观霉素抗性。

### 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  $-70^{\circ}\text{C}$ ，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 (0.1-2mM 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。

### Sample Induction Protocol (for reference only)

1. Inoculate a single colony from a freshly streaked plate into 5ml of LB medium containing the appropriate antibiotic for the plasmid and host strain.
2. Incubate with shaking at 200rpm at  $37^{\circ}\text{C}$  overnight.
3. Inoculate 50ml of LB medium containing the appropriate antibiotic with 0.5ml of the overnight culture prepared in step 2 (use the 500ml triangular flask as the container would be better).
4. Incubate with shaking at 150rpm at  $37^{\circ}\text{C}$  until the OD 600 reaches 0.5-0.8.
5. (Optional) Pipet 1ml of the cultures into clean microcentrifuge tubes and place the tubes on ice until needed for gel analysis or storage at  $-20^{\circ}\text{C}$ . These will serve as the non-induced control samples.
6. Add IPTG to a final concentration of 1mM. Optimal time for induction of the target protein may vary from 2-16hours, depending on the protein.
7. Incubate with shaking at 120 rpm at  $37^{\circ}\text{C}$  for 3-4hours. To determine the optimal time for induction of the target protein, it is recommended that a time course experiment be performed varying the induction from 2-16 hours.
8. Place the culture on ice for 10minutes. Harvest cells by centrifugation at  $5,000 \times g$  for 10minutes at  $4^{\circ}\text{C}$ .
9. Remove the supernatant and store the cell pellet at  $-20^{\circ}\text{C}$  (storage at lower temperatures is also acceptable).

### IPTG 配制：

Prepare a 1M solution of IPTG (Isopropyl- $\beta$ -D-thiogalactoside; Isopropyl- $\beta$ -D-thiogalactopyranoside) by dissolving 2.38g of IPTG in dd water and adjust the final volume to 10ml. Filter sterilize before use.