



BL21-Star(DE3)pLysS 感受态细胞

BL21-Star(DE3)pLysS Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1208

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1208-1	BL21-Star(DE3)pLysS 感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC1208-2	BL21-Star(DE3)pLysS 感受态细胞	20×100μl

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-Star(DE3)pLysS 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 rne131 (DE3)pLysS (Cam^R)

产品特点:

BL21 Star(DE3)pLysS 菌株来源于 BL21(DE3), 含有 rne131 突变(RNaseE 基因), RNaseE 基因的突变降低了内源 RNase 的积累, 增强菌株细胞内 mRNA 的稳定性, 从而提高异源蛋白的表达水平。主要适用于 T7 启动子表达载体 (如 pET 系列) 的高水平蛋白表达, 同时含有大肠杆菌 RNA 聚合酶, 也可用于非 T7 启动子表达载体 (pGEX, pMAL 等) 的蛋白表达。由于 BL21 Star(DE3) 菌株的异源基因基础表达水平较高, 所以不适合毒性蛋白的表达。BL21 Star(DE3)pLysS 菌株携带 pLysS 质粒, 具有氯霉素抗性。pLysS 含有表达 T7 溶菌酶的基因, T7 溶菌酶可以作用于大肠杆菌细胞壁上的肽聚糖溶解大肠杆菌, 还可与 T7 RNA 聚合酶结合抑制其转录活性, 进而降低目的基因的背景表达水平, 但不干扰 IPTG 诱导的表达。pLysS 质粒含有 p15A 复制起始子, 可以和含有 pUC 或 pBR322 等复制起始子的质粒兼容。

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 2YT 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 2YT 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°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。
- BL21 Star(DE3)pLysS 菌株携带 pLysS 质粒, 除复苏培养基为无抗生素外, 其余所用培养基、培养液均应含有 34 μ g/ml 氯霉素, 以防质粒丢失。

Sample Induction Protocol (for reference only)

1. Inoculate a single colony from a freshly streaked plate into 3ml of LB medium containing the appropriate antibiotic for the plasmid and host strain.
2. Incubate with shaking at 200rpm at 37 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C until the OD₆₀₀ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C for 2-4hours. 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 10 minutes. Harvest cells by centrifugation at 5,000 \times g for 10minutes at 4 $^{\circ}$ C.
9. Remove the supernatant and store the cell pellet at -20 $^{\circ}$ C (storage at lower temperatures is also acceptable).

IPTG 配制:

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

氯霉素配制:

Chloramphenicol 34mg/ml in ethanol. Store at -20 $^{\circ}$ C. Use at 34 μ g/ml.