



BL21-Gold 感受态细胞

BL21-Gold Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1271

目录编号	产品名称	包装单位
■ ZC1271-1	BL21-Gold 感受态细胞	100μl×10

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℃ 保存六个月。

产品介绍:

BL21-Gold 菌株来源于 Stratagene 公司的 BL21 菌株, 缺少 Lon 蛋白酶和 OmpT 蛋白酶, 减少对重组蛋白的降解。BL21-Gold 菌株的染色体中整合了一个有功能的 Dcm 甲基化酶, 可以促进质粒的稳定, 防止被自身的限制酶系统降解; 引入了 Hte 基因, 可以提高转化效率; 缺失核酸内切酶(endA), 提高了质粒 DNA 的产量、质量和稳定性。BL21-Gold 菌株不含 T7 RNA 聚合酶, 在不引入外源 T7 RNA 聚合酶时不能用于由 T7 启动子驱动的表达(如: pET 系列); 含有大肠杆菌 RNA 聚合酶, 可以用于 tac 或 trc 等使用大肠杆菌 RNA 聚合酶的原核系统的表达(如: pGEX, pMAL 质粒); 通过感染 CE6 噬菌体可将 T7 RNA 聚合酶引入 BL21-Gold, 诱导 T7 启动子驱动的表达(如: pET 系列), 这种方法完全没有泄漏表达, 可以用于表达毒性基因。BL21-Gold 感受态细胞具有四环素抗性, 由特殊工艺制作, 使用 pUC19 质粒检测, 转化效率高达 10^8 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: E. coli B F- ompT hsdS(rB mB⁻) dcm⁺ Tet^r gal endA Hte

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℃ 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℃ 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℃ 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。