Order: 010-62617225
Technical: 010-62979301
Email: zomanbio@126.com

ZOMANBIO

本产品仅供科研使用.请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

版本号:2025-11-28

ClearColi BL21(DE3) 电转感受态细胞

ClearColi BL21(DE3) Electroporation Competent Cell

Cat.NO. ZC1251D

目录编号	产品名称	包装单位
■ ZC1251D-1	ClearColi BL21(DE3) 电转感受态细胞	50μl×5
■ ZC1251D-2	ClearColi BL21(DE3) 电转感受态细胞	50μl×20

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：

ClearColiBL21(DE3)细胞是第一种商业化的感受态细胞，具有修饰的LPS(脂质IVA)，不会触发人细胞的内毒素反应。ClearColi细胞缺乏用于hTLR4/MD-2激活的外膜激动剂；因此，与大肠杆菌野生型细胞相比，ClearColi对hTLR4/MD-2信号的激活作用要低几个数量级。由ClearColi制备的异源蛋白几乎没有内毒素活性。从ClearColi细胞中最少次纯化，蛋白质或质粒(可能包含脂质IVA)可用于大多数应用，而不会引起人细胞内毒素反应。在ClearColi细胞中，通常被六酰基化的LPS的两条次级酰基链已被删除，从而消除了真核细胞内毒性的关键决定因素。LPS的六个酰基链是触发因子，与髓样分化因子2(MD-2)结合时，被Toll样受体4(TLR4)识别，从而引起NF-κB的活化和促炎细胞因子的产生。两个二级酰基链的缺失导致脂质IVA，它不会诱导活化的异四聚体TLR4 / MD-2复合物的形成，因此不会触发内毒素反应。另外，寡糖链被删除，使得更容易从任何下游产物中除去所得的脂质IVA。ClearColiBL21(DE3)电转感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19质粒检测转化效率可达1×10^7cfu/μg DNA。

基因型为：F⁻ ompT hsdSB($r_B^-m_B^-$) gal dcm lon λ(DE3 [lacI lacUV5-T7 gene 1 ind1 sam7 nin5]) msbA148 ΔgutQ ΔkdsD ΔlpxL ΔlpxM ΔpagP ΔlpxP ΔeptA

产品特点:

- Genetically modified LPS does not trigger endotoxic response in human cells;
- Ideal for mammalian cell immunogenicity testing, toxicity ass.

操作方法：

以下操作均按无菌条件的标准进行:

1. 0.1cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5min，待其沥干水分，正置 5min，使乙醇充分挥发，待乙醇挥发干净立即插入冰中，压实冰面，电极杯顶离冰面 0.5cm 以方便盖上杯盖，冰中静置 5min 充分降温。

2. 取 -70℃保存的电击感受态细胞插入冰中 5min，待其融化，加入目的 DNA(质粒或连接产物) 并用手拨打离心管底轻轻混匀，避免产生气泡，立即插入冰中。

A. 测定转化效率使用 1μl 0.1ng/μl 的对照质粒 pUC19;

B. 对于连接产物, 请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液 (10mM Tris-HCl, pH7.5;1mM EDTA) 重悬, DNA 浓度不超过 100ng/μl, 体积不超过 5μl/50μl 感受态。

3. 用 200μl 枪头将感受态 -DNA 混合物快速移到电击杯中, 避免产生气泡, 盖上杯盖。

4. 启动电转仪, 设置参数:C=25μF, PC=200Ω, V=1.8kV(BioRad 电转仪推荐参数);或 C=25μF, PC=200Ω, V=1.8kV(BTX ECM 630 或 Bio-Rad GenePulser 电转仪推荐参数);也可按所用电转仪推荐的参数操作。将电击杯快速放入电转槽中, 电击完成快速插入冰中。

5. 加入 700μl 不含抗生素的无菌 SOC 或 LB 培养基, 用 1ml 枪吹吸电击杯底部数次混匀后, 转移到 50ml 离心管(BD Falcon 50ml 锥形离心管等), 向离心管中补加 SOC 或 LB 培养基至 5ml。37℃, 225rpm 复苏 60min。

6. 5000rpm 离心 1min 收菌, 重悬后取 100-200μl 涂布到含相应抗生素的 SOC 或 LB 平板上(因菌量较大, 若全部涂板请选用直径 15cm 培养皿 2-5 个)。将平板倒置放于 37℃培养箱过夜培养 13-17h。

注意事项:

1. 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 电击感受态细胞加入电击杯应避免产生气泡, 气泡会增加弧光放电风险。
3. DNA 加入到细胞中后, 立即进行电击操作;电击完成后立刻加上 LB 或 SOC 等复苏培养基, 每分钟延迟加入会导致 3 倍转化效率的降低。
4. 电击杯里的离子可增加溶液的电导增大在含有细胞和 DNA 的溶液中产生电流和弧光放电的风险。
5. 当 DNA 不纯或存在盐, 乙醇, 蛋白及缓冲液等污染时, 转化效率急剧下降。
6. 若转化大质粒或想获得较高转化效率, 推荐使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒。质粒增大一倍, 转化效率下降一个数量级。
7. 对于连接产物转化, 最好转化前乙醇沉淀 DNA 后用适量 TE 缓冲液 (10mM Tris HCl, pH7.5; 1mM EDTA) 重悬产物, 保证 DNA 浓度不超过 100ng/μl。过高浓度连接产物或过大体积连接产物会降低转化效率, 增加弧光放电的风险。
8. 混入质粒时应轻柔操作, 吸取感受态细胞时不可用孔径过小的枪头 (普通 200μl 枪头应剪去枪头尖 0.6cm) 避免用力过猛, 以免剪切力过大损伤细胞膜, 降低转化效率。转化高浓度的质粒或连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
9. 电击感受态细胞最好保存在 -70℃以下, 高于 -70℃超期储存会导致转化效率下降。

ZOMANBIO