

克
必
隆
系
列

CAT#:140378-10
干冰运输、-80℃保存

TIANDZ

BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL 感受态细胞

BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL Competent Cell

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506
网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>本产品来源于 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。本产品由特殊工艺制作, 经 pUC19 质粒检测转化效率高达 10⁸cfu/μg。</p> <p>菌株基因型为: F⁻ ompT hsdS (r_B⁻m_B⁻) dcm⁺ Tet^r galλ(DE3) endA Hte [argU proL Cam^r] [argU ileY leuW Strep/Spec^r]</p>				
<p>规格及成分</p>		<p>成分</p>	<p>编号</p>	<p>包装</p>	
		<p>本产品</p>	<p>140378</p>	<p>0.1 mL×10</p>	
		<p>使用手册</p>	<p>1 份</p>		
<p>运输及保存</p>	<p>干冰运输、-80℃保存, 有效期半年。</p>				
<p>自备试剂</p>	<p>目的 DNA、SOC 或 LB 培养基等</p>				
<p>使用方法</p>	<ol style="list-style-type: none"> 取感受态细胞置于冰浴中。一次转化感受态细胞的建议用量为 50-100μL, 可以根据实际情况分装使用。 待感受态细胞融化后, 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA (根据实际情况加入适量的 DNA, 通常 100 μL 感受态细胞能够被 1 ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和), 用移液器轻轻吹打混匀, 冰浴 30 分钟。 42℃热击 45 秒, 迅速将离心管转移到冰浴中, 冰上静置 2-3 分钟。 每个离心管中加入 450 μL 无菌的 SOC 或 LB 培养基(不含抗生素), 混匀后置于 37℃摇床, 150 rpm 振荡培养 45 分钟使菌体复苏。 根据实验需求, 取适量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, 用无菌的涂布棒将细胞均匀涂开, 将平板置于 37℃直至液体被吸收, 倒置培养, 37℃培养 12-16 小时。 <p>注意:</p> <ol style="list-style-type: none"> 涂布用量可根据具体实验调整。若转化的 DNA 总量较多, 可取少量转化产物涂布平板; 若转化的 DNA 总量较少, 可取 200-300 μL 转化产物涂布平板。若预计的克隆数较少, 可通过离心 (4,000 rpm, 2 分钟) 后吸除部分培养液, 悬浮菌体后将其涂布于平板中。 				

	<ol style="list-style-type: none">2. 新制备的固体培养基不易涂干，可将平板正置于 37℃直至液体被吸收后再倒置培养。3. 涂布剩余的菌液可置于 4℃保存，如果次日的转化菌落数过少，可以将剩下的菌液再涂布新培养基进行培养。4. 诱导时，IPTG 浓度可选（0.1-2mM 均可）。5. 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。
关联产品	BL21 (DE3)感受态细胞 (CAT#:90505)

20140606YZH