BL21(DE3)pLysS 感受态细胞

产品货号：JGST0005

保存条件：-80℃

产品规格：

JGST0005-01	JGST0005-02
10×100 μl	20×100 μl

产品简介

本公司生产的BL21(DE3)pLysS感受态细胞是采用大肠杆菌BL21(DE3)pLysS菌株经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，转化效率可达10^7cfu/μg DNA，-80℃保存几个月转化效率不发生改变。该菌株带有质粒pLysS，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，能够降低目的基因的背景表达水平，但不干扰IPTG诱导的表达，适合表达毒性蛋白和非毒性蛋白。

基因型

F^- *ompT* *hsd*S_B(rB^- mB^-) *gal dcm*（DE3）pLysS Cam^r

操作流程（以下操作均在无菌条件的标准进行）

1. 取100μl感受态细胞放置冰中融化（或放手心或室温片刻，待菌体处于冰水混合状态时迅速插入冰中），向感受态细胞悬液加入目的DNA（100μl的感受态细胞能被1ng超螺旋质粒DNA所饱和）并用手拨打EP管底轻轻混匀，冰上静置30分钟。
2. 42℃水浴热激60-90秒，迅速放回冰上并静置3-5分钟，晃动会降低转化效率。

3. 向离心管中加入 900μl 不含抗生素的无菌培养基（SOC 或 LB），混匀后置于 37℃培养 45min（150 rpm），目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达，使菌体复苏。
4. 根据实验需求，取适量已转化的感受态细胞涂布到含 34μg/ml 氯霉素及所选质粒筛选抗生素的 SOB 或 LB 固体培养基上。将平板置于室温直至液体被吸收，倒置平板放于 37℃培养 12-16h。

注意事项

1. 感受态细胞一定要用干冰运输。收到后应-80℃下保存，不可反复冻融和放置时间过长，以免降低感受态细胞的转化效率。
2. 感受态细胞最好在冰上融化。混入质粒或连接产物时应轻柔操作。
3. 涂布用量可根据具体实验调整。若转化高浓度的质粒或高效率的连接产物，可相应减少最终用于涂板的菌量。若预计克隆数较少，可通过离心（4000rpm，2 分钟）吸除部分培养液，悬浮菌体后将其涂布平板中。
4. 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，可将剩下的菌液再涂布新的固体培养基进行培养。
5. BL21(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 34μg/ml 氯霉素，以防质粒丢失。