



BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC209)

BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL :	100μl/支
pUC19 (control vector , 0.1ng/μl):	5μl
保存条件(保质期) :	-80℃ (6 个月)

产品介绍

BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL 菌株来源于 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。BL21- CodonPlus(DE3)-RIPL 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率高达 10^8 cfu/μg DNA。

基因型: $F^- ompT hsdS(r_B^- m_B^-) dcm^+ Tet^R gal \lambda(DE3) endA Hte [argU proL Cam^R]$
 $[argU ileY leuW Strep/Spec^R]$

操作方法

1. 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 25 分钟。

注意: 所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞体积的 1/10。

2. 将离心管置于 42℃ 水浴中放置 60 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2 分钟, 该过程不要摇动离心管。

3. 向每个离心管中加入 700μl 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。

4. 根据实验要求, 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。

注意事项

1. 感受态细胞需要在冰中缓慢融化, 插入冰中 10 分钟内加入目标 DNA, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。

2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作, 避免用移液枪吹吸。

3. 转化高浓度的质粒时可相应减少最终用于涂板的菌量。

4. 感受态细胞应保存在 -80℃, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。

5. 诱导时, IPTG 浓度可选 (0.1-2mM 均可)。

6. 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。