

M5 HiPer BLR (DE3)感受态细胞（增强质粒稳定性，提高表达量） 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer BLR (DE3)感受态细胞	100 μ l $\times$ 20 支	MFS02033-20

【储存条件】

-80 $^{\circ}$ C 恒温保存，有效期六个月；干冰运输。

【产品性能】

菌株类型: E.coli

培养基: LB 培养基

生长条件: 37 $^{\circ}$ C, 有氧

应用: 蛋白表达

质粒转化条件: 42 $^{\circ}$ C热激

诱导方法 IPTG

BLR 是 RecA (重组酶 A 缺陷) 型菌株, 来源于 BL21. 该菌株提升了质粒单体的产量, 这有助于提升含有重复序列的质粒的稳定性, 也能提高能够导致 DE3 噬菌体丢失的质粒的稳定性. BLR 菌株同时是 lon 和 ompT 蛋白酶缺陷型菌株. DE3 是溶源性的 λ DE3, 所以带有 T7 RNA 聚合酶的染色体拷贝. 该菌株适用于 pET 系列载体, 及其他 T7 启动子系列载体.

【使用方法】

按照无菌操作规程进行下列操作步骤:

1. 取感受态细胞置于冰浴中融化, 待完全化冻后轻轻混匀. 如需分装, 可将融化的细胞悬液转移到无菌、预冷的离心管中, 置于冰浴中备用. 混匀、分装时动作应轻缓, 以防细胞破裂.
2. 向 50~100 μ l 细胞悬液中加入目的 DNA, 轻轻混匀, 冰浴中放置 30 分钟.
注意: 加入 DNA 的体积以不超过感受态细胞体积的十分之一为宜.
3. 将离心管转移至 42 $^{\circ}$ C 水浴中热激 60~90 秒, 然后快速将离心管转移到冰浴中冷却 2 分钟. 该过程不要摇动离心管.
4. 向离心管中加入 500~900 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 200 rpm 左右振荡培养 45~60 分钟, 使菌体复苏并表达质粒上的抗生素抗性基因.
5. 根据实验要求, 取适量转化后的菌液加到含相应抗生素的 LB 固体琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开. 待液体被完全吸收后, 37 $^{\circ}$ C 倒置培养约 16 小时.
注意: 涂布量的选择应根据目的 DNA 的性质和浓度适当进行调整, 通常可按下述方法涂布:
 - a. 目的质粒 DNA 在 1 ng 左右时, ϕ 90 mm 平皿可涂布 100 μ l, ϕ 55 mm 平皿可涂布 50 μ l; 目的质粒浓度较高时, 应相应减少涂布量.
 - b. 连接产物的转化菌液可通过 4,000 rpm 离心 1~2 分钟后, 吸除大部分上清, 用剩余的 100~200 μ l 上清重悬菌体, 涂布于同一块琼脂平板上.

【注意事项】

1. 融化后的感受态细胞应及时进行转化, 以免降低转化效率; 融化后不宜再次冻结保存.
2. 整个操作过程要轻柔, 避免移液枪吹吸.

【备注】

本产品仅供科研使用. 在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品.