M5 HiPer BSR(DE3)感受态细胞（增强 mRNA 稳定性，提高含稀有密码子蛋白表达量）使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer BSR(DE3)感受态细胞	100 μ l $\times$ 20 支	MFS02041-20

【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, 基因型: *F- ompT hsdSB(rB-mB-) dcm gal (DE3) me131 pRARE(argU, argW, ileX, glyT, leuW, proL)*

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

【制备方法】

将工作菌种 1: 100 接种于 2YT 培养基中, 37 $^{\circ}$ C 220rpm 培养至 OD₆₀₀= 0.5, 收菌, 使用 CaCl₂ 法制备化学感受态细胞, 最后悬于 0.1M CaCl₂+10%甘油溶液中, 分装在 EP 管中, 采用 pUC18 质粒测定感受态细胞效价, 效价大于 0.6 $\times$ 10⁷.

【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。