

## M5 BL21(DE3) Competent Cell 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 BL21(DE3) Competent Cell	100 $\mu$ l $\times$ 10 支	MF040-10
M5 BL21(DE3) Competent Cell	100 $\mu$ l $\times$ 20 支	MF040-20

### 【储存条件】

-80 $^{\circ}$ C 恒温保存，避免反复冻融，有效期六个月；干冰运输。

### 【产品简介】

BL21(DE3)大肠杆菌菌株是一种常用于质粒克隆的菌株，其基因型为 *F- lon ompT hsdSB (rB-,mB-) dcm gal rne131(DE3)*。T7 RNA 聚合酶基因的表达受控于噬菌体 DE3 区的 *lacUV5* 启动子，该区整合于 BL21 的染色体上。该菌适合于非毒性蛋白的重组表达。使用 pUC19 质粒检测，转化效率可达  $10^6$  cfu/ $\mu$ g DNA。

### 【产品组份】

M5 BL21(DE3) Competent Cell, pUC19 (0.1 ng/ $\mu$ l)。

### 【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 $\mu$ 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 $\mu$ 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， $\phi$ 90 mm 平皿可涂布 100 $\mu$ l， $\phi$ 55 mm 平皿可涂布 50 $\mu$ 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 4,000rpm 离心 1~2 分钟后，吸除大部分上清，用剩余的 100~200 $\mu$ 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；融化后再次-80 $^{\circ}$ C 冻存的感受态细胞，其转化效率通常降至  $10^5$  cfu/ $\mu$ g DNA 以下，仍可进行环形质粒的转化。
2. 整个操作过程要轻柔，避免移液枪吹吸。
3. 请使用传热性能好的薄壁试管或离心管，换用不同的试管或离心管时，应摸索热激时间，以获得最佳转化效率。

### 【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。