

## M5 BL21 (DE3) pLysS Competent Cell 使用说明书

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

本产品是大肠杆菌 BL21(DE3) pLysS 菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞，可用于 DNA 的热击转化。该菌株携带 pLysS 质粒，具有氯霉素抗性，适合表达毒性蛋白和非毒性蛋白。pLysS 含有表达 T7 溶菌酶的基因，能够降低目的基因的背景表达水平，但不干扰目的蛋白的表达。使用 pUC19 质粒检测，转化效率可达  $10^7$ 。

### 【产品组份】

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

### 【使用方法】

1. 取感受态细胞置于冰浴中。一次转化感受态细胞的建议用量为 50-100  $\mu$ l，可以根据实际情况分装使用。以下实验以 50  $\mu$ l 感受态细胞为例。
2. 待感受态细胞融化后，向感受态细胞悬液中加入目的 DNA（根据实际情况加入适量的 DNA，通常 100  $\mu$ l 感受态细胞能够被 1 ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和），用移液器轻轻吹打混匀，冰浴 30 分钟。
3. 42 $^{\circ}$ C 热击 45 秒，迅速将离心管转移到冰浴中，冰上静置 2-3 分钟。
4. 向每个离心管中加入 450  $\mu$ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基（不含抗生素），混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 摇床，150 rpm 振荡培养 45 分钟使菌体复苏。
5. 根据实验需求，取适量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，用无菌的涂布棒将细胞均匀涂开，将平板置于 37 $^{\circ}$ C 直至液体被吸收，倒置培养，37 $^{\circ}$ C 培养 12-16 小时。

注意：1) 涂布用量可根据具体实验调整。若转化的 DNA 总量较多，可取少量转化产物涂布平板；若转化的 DNA 总量较少，可取 200-300  $\mu$ l 转化产物涂布平板。若预计的克隆数较少，可通过离心（4,000rpm，2 分钟）后吸除部分培养液，悬浮菌体后将其涂布于平板中。

2) 新制备的固体培养基不易涂干，可将平板正置于 37 $^{\circ}$ C 直至液体被吸收后再倒置培养。

3) 涂布剩余的菌液可置于 4 $^{\circ}$ C 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培养基进行培养。

### 【注意事项】

1. 感受态细胞一定要用干冰运输。感受态细胞应在 -80 $^{\circ}$ C 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. 转化所有步骤均在无菌条件下操作。
3. 包装中有 0.1 ng/ $\mu$ l 的 pUC19DNA，供对照试验使用。

### 【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。