

## C43(DE3) pLysS 感受态细胞

### C43(DE3) pLysS Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G27025

保存条件: -80℃

产品规格: 10×100μl 50×100μl

产品介绍

基 因 型

F - ompT hsdSB (rB- mB-) gal dcm (DE3)pLysS CamR

简 要 说 明

OverExpress C43(DE3)、OverExpress C41(DE3)两个菌株均起源于

BL21(DE3), 其优点是可以高效表达毒性蛋白或疏水性蛋白。OverExpress C41(DE3)跟 BL21(DE3)的区别在于其基因组含有至少一个未知突变, 这个未知突变使其获得了高效表达毒性蛋白的能力, 此突变位点参与大肠杆菌表达毒性蛋白时的细胞死亡途径; OverExpress C43(DE3)来源于 OverExpress C41(DE3), 是通过筛选 OverExpress C41(DE3)对另一个不同毒性蛋白的抗性菌株获得。C43(DE3)菌株具有比 C41(DE3)更强的表达毒性蛋白和疏水性蛋白的能力。将具有氯霉素抗性的 pLysS 质粒导入 C43(DE3)细胞中即是 C43(DE3) pLysS, pLysS 表达 T7 溶菌酶, T7 溶菌酶可以与 T7 RNA 聚合酶结合抑制其转录活性, 进而降低目的基因的背景表达水平, 但不干扰 IPTG 诱导的表达, 非常适合毒性蛋白的原核表达。该菌株染色体整合了  $\lambda$  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。C43(DE3)pLysS 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率可达  $1 \times 10^8$  cfu/  $\mu$ g DNA。

## 操 作 说 明

1. C43(DE3)pLysS 感受态细胞从  $-80^{\circ}\text{C}$  拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的质粒, 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打), 冰中静置 25 分钟。
2.  $42^{\circ}\text{C}$  水浴热激 45 秒, 迅速放回冰中并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700  $\mu$ l 不含抗生素的 LB 无菌培养液,  $37^{\circ}\text{C}$ , 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 留取 50  $\mu$ l 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含 34  $\mu$ g/ml 氯霉素及所选质粒筛选抗生素的 LB 培养基上。

5.将平板倒置放于 37℃培养箱过夜培养。

### 注 意 事 项

- 1.感受态细胞最好在冰中缓慢融化，插入冰中 8 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.转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
- 3.诱导时，IPTG 浓度可选（0.1-2 mM 均可）。
- 4.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。
5. C43(DE3)pLysS 菌株携带 pLysS 质粒，除复苏培养基为无抗生素外，其余所用培养基、培养液均应含有 34  $\mu\text{g/ml}$  氯霉素，以防质粒丢失。