

BL21 电击感受态细胞

BL21 Electroporation-Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G27020

保存条件: -80℃

产品规格: 10×50μl 50×50μl

产品介绍

基 因 型

E. coli B F- dcm ompT hsdS(rB- mB-) gal [malB+]K-12(λ S)

简 要 说 明

BL21 是最早开发的用于原核表达的菌株，BL21 (DE3)、Rosetta、

OrigamiB(DE3) 等一系列原核表达菌株均来源于 BL21 菌株。该菌株主要用于非毒性蛋白的表达，不含 T7 RNA 聚合酶，所以不能用于由 T7 启动子驱动的表达(如：pET 系列)；但含有大肠杆菌 RNA 聚合酶，可以用于 tac 或 trc 等使用大肠杆菌 RNA 聚合酶的原核系统的表达（如：pGEX，pMAL 质粒）。MLBio High5™ 系列 BL21 电击感受态细胞由特殊工艺制作，经 pUC19 质粒检测转化效率达 1010cfu/μg。

操作说明

1. 0.1 cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5 分钟，待其沥干水分，正置 5 分钟，待乙醇挥发干净立即插入冰中，压实冰面，电极杯顶离冰面 0.5 cm 以方便盖上杯盖，冰中静置 5 分钟充分降温。
2. 取-80℃保存的 BL21 电击感受态细胞插入冰中 5 分钟，待其融化，加入目的 DNA（质粒或连接产物）并用手拨打 EP 管底轻轻混匀，避免产生气泡，立即插入冰中。
 - A. 测定转化效率使用 1 μl 10 pg/μl 的对照质粒 pUC19；
 - B. 对于连接产物，大部分公司的 T4 连接酶反应体系或 50 度反应重组体系可与 DB3.1 电击感受态混合后电击转化，无需进行 DNA 纯化，但 DNA 浓度不能过高，DNA 浓度不超过 100 ng/μl，体积不超过 5 μl/50 μl 感受态。
 - C. 对盐浓度较高的 DNA 溶液或反应体系请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液（10 mM Tris HCl, pH7.5; 1 mM EDTA）重悬，然后与 DB3.1 电击感受态混合进行电击转化。
3. 用 200 μl 枪头(用刀切除 0.5cm 枪尖)将感受态-DNA 混合物快速移到电击杯中，避免产生气泡，盖上杯盖。

4. 启动电转仪，设置参数：C=25 μ F，PC=200 Ω ，V=1.8 kV（此为 BioRad 电转仪推荐参数，也可按所用电转仪推荐的参数操作），将电击杯快速放入电转槽中，电击完成快速插入冰中。
5. 2 分钟后从冰中取出电击杯，放室温，加入 700 μ l 不含抗生素的无菌 S.O.C. 培养基（室温），用 1ml 枪吹吸电击杯底部数次混匀后，转移到 50 ml 离心管（BD Falcon 50 ml 锥形离心管等），向离心管中补加 S.O.C. 培养基至 10 ml。37 $^{\circ}$ C，225 rpm 复苏 60 分钟。
6. 5000 rpm 离心一分钟收菌，重悬后取 100-200 μ l 涂布到含相应抗生素的 S.O.C 平板上（因菌量较大，若全部涂板请选用直径 15cm 培养皿 2-5 个）。将平板倒置放于 37 $^{\circ}$ C 培养箱过夜培养 13-17 小时。

注 意 事 项

1. 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 电击感受态细胞加入电击杯应避免产生气泡，气泡会增加弧光放电风险。
3. 当 DNA 不纯或存在盐，乙醇，蛋白及缓冲液等污染时，转化效率急剧下降。
4. 电击杯里的离子可增加溶液的电导，增大在含有细胞和 DNA 的溶液中产生电流和弧光放电的风险。
5. 若转化大质粒或想获得较高转化效率，推荐使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒。质粒增大一倍，转化效率下降一个数量级。
6. 对于连接产物转化，部分公司的连接体系或重组体系(例如：Thermo，NEB 公司的 T4 连接酶系统，NEB，天根的 50 度反应重组系统)可以直接与 DB3.1 电击感受态混合后电击转化，无需纯化，但 DNA 浓度不能过高，最好不超过 100

ng/ μ l。过高浓度连接产物或过大体积连接产物会降低转化效率，增加弧光放电的风险。

7.混入质粒时应轻柔操作，吸取感受态细胞时避免用力过猛，以免剪切力过大损伤细胞膜，降低转化效率。转化高浓度的质粒或连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。

8.电击感受态细胞最好保存在-80℃以下，高于-80℃超期储存会导致转化效率会下降。