

BL21 Star(DE3)pLysS 感受态细胞

BL21 Star(DE3)pLysS Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G27015

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 rne131 (DE3)pLysS (CamR)

简 要 说 明

BL21Star(DE3)pLysS 菌株来源于 BL21(DE3)，含有 **rne131** 突变（RNaseE 基因），RNaseE 基因的突变降低了内源 RNase 的积累，增强菌株细胞内 mRNA 的稳定性，从而提高异源蛋白的表达水平。-MLBio

主要适用于 T7 启动子表达载体(如 pET 系列)的高水平蛋白表达，同时含有大肠杆菌 RNA 聚合酶，也可用于非 T7 启动子表达载体（pGEX，pMAL 等）的蛋白表达。由于 BL21 Star(DE3)菌株的异源基因基础表达水平较高，所以不适合毒性蛋白的表达。-MLBio

BL21 Star(DE3)pLysS 菌株携带 pLysS 质粒，具有氯霉素抗性。pLysS 含有表达 T7 溶菌酶的基因，T7 溶菌酶可以作用于大肠杆菌细胞壁上的肽聚糖溶解大肠杆菌，还可与 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。pLysS 质粒含有 p15A 复制起始子，可以和含有 pUC 或 pBR322 等复制起始子的质粒兼容。Bio-

BL21Star(DE3) pLysS 感受态细胞由特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率达 107 cfu/μg DNA。

操作说明

1. Bio-BL21Star (DE3) pLysS 感受态细胞从-80℃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 管底混匀，冰中静置 25 分钟。
2. 42℃水浴热激 45 秒，迅速放回冰上并静置 2 分钟，晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μl 不含抗生素的无菌培养基（2YT 或 LB），混匀后 37℃，200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌，留取 100 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 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.混入质粒时应轻柔操作。
- 3.转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
- 4.诱导时，IPTG 浓度可选（0.1-10 mM 均可）。
- 5.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。
- 6.BL21 Star(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 34μg/ml 氯霉素，以防质粒丢失。