



BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL 感受态细胞

产品信息:

| | |
|---|----------|
| 组成 | BC220-02 |
| BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL Competent cells | 20×100μl |
| pUC19 质粒 | 5 μl |

储存条件: -70°C保存, 避免反复冻融。

产品介绍:

BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL 属于大肠杆菌 B 菌株。Lon 蛋白酶和 OmpT 蛋白酶缺陷型。BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL 菌株可以额外提供 4 种氨基酸对应的稀有 tRNA argU (AGA, AGG), ileY (AUA), proL (CCC), leuW (CUA)。基于 pACYC 载体构建的重组质粒可以提供额外拷贝的 argU 和 proL-tRNA 基因。而基于 pSC101 载体构建的重组质粒表达额外拷贝 argU、ileY 和 leuW-tRNA 基因。提高富含 AT 或 GC 序列的外源基因在大肠杆菌中的表达。该菌株又具备λ噬菌体 DE3 区, 可以表达 T7 RNA 聚合酶, 适用于含有 T7 启动子的原核表达载体(如 pET 等)的高效表达。非 T7 启动子的表达载体(如 pGEX, pMal, pTrc 等载体)也可以在该菌株中表达。感受态细胞由特殊工艺制成, pUC19 质粒检测转化效率达 1×10^6 cfu/μg DNA。

基因型:

F⁻ompT hsdS(r_B⁻m_B⁻) dcm⁺ Tet^R gal λ(DE3) endA Hte [argU proL Cam^R] [argU ileY leuW Strep/Spec^R]

菌株抗性: 菌株具有四环素, 氯霉素, 链霉素, 壮观霉素抗性。对氨苄青霉素、卡那霉素敏感。

转化步骤:

1. 将感受态细胞置于冰水浴中化冻。待细胞刚化冻后, 加入质粒 DNA 到细胞中, 用手指拨打管底, 轻轻混匀;
2. 冰水浴中放置 30 分钟, 不要晃动;
3. 42°C热击 60 秒钟, 不要晃动;
4. 冰水浴中放置 2 分钟, 不要晃动;
5. 加入 500μl 无菌的 LB 培养基;
6. 置于 37°C摇床中, 150-200rpm 震荡复苏培养 60 分钟;
7. 取 50-100 μl 菌液涂布在含有抗性的 LB 平板上。待液体吸干后, 倒置平板, 37°C过夜培养。

(**平板划线分离法:** 复苏培养结束后, 12000rpm 离心 30 秒钟, 弃掉上清, 留 100μl 左右的液体, 用 200μl 吸头轻轻吹打散菌块, 取 10μl 重悬的菌液分多点滴在平板上, 倾斜吸头, 用吸头头部的侧面将滴在平板上的液体来回划线。这个方法可以获得更大的单克隆菌落。此方法主要适用于质粒转化, 连接产物转化最好用涂布法。)

(**质粒快速转化步骤:** 对于氨苄青霉素抗性的质粒, 将步骤 2 的时间缩短到 5 分钟, 完成步骤 4 后, 可直接涂布或划线于含氨苄青霉素抗性的 LB 平板上。其它抗性的质粒仍需 60 分钟的复苏。)

20231214