



BL21 (DE3) T1 感受态细胞

产品信息:

组成	BC221-01	BC221-02
BL21 (DE3) T1 Competent cells	10×100μl	20×100μl
pUC19 质粒	5 μl	5 μl

储存条件: -70°C保存，避免反复冻融。

产品介绍:

BL21 (DE3) T1 细胞来源于 BL21 (DE3)菌株，该细菌具有抗 T1 噬菌体感染的特性，缺乏细胞质蛋白酶 Lon 和外膜蛋白酶 OmpT。功能和 BL21 (DE3)完全一样。该菌株具备λ噬菌体 DE3 基因区，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。BL21 (DE3) T1 感受态细胞由特殊工艺制成，pUC19 质粒检测转化效率大于 1×10^7 cfu/μg DNA。

基因型:

fhuA2 [lon] ompT gal (λ DE3) [dcm] ΔhsdS λ DE3 = λ sBamHI ΔEcoRI-B int:: (lacI::PlacUV5::T7 gene1) i21 Δnin5

菌株抗性: 对氨苄青霉素、卡那霉素、壮观霉素、链霉素、四环素、氯霉素敏感。

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 500 μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基。
- 6.置于 37°C摇床中，150-200 rpm 震荡复苏培养 60 分钟。
- 7.取 50-100 μl 菌液涂布适当浓度的转化质粒的抗性抗生素的 LB 平板上。待液体吸干后，倒置平板，37°C培养 12-16 小时。
(平板划线分离法: 复苏培养结束后，12,000 rpm 离心 30 秒钟，弃掉上清，留 100 μl 左右的液体，用 200 μl 吸头轻轻吹散菌块，取 10 μl 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多更大的单克隆菌落。)

蛋白表达步骤:

- 1.挑取单菌落，接种到含 5 ml 带抗生素的 LB 培养基中。
- 2.37°C，200 rpm 震荡培养细菌至对数生长期 (OD₆₀₀=0.4-0.8)。
- 3.加入 IPTG 到终浓度为 0.4 mM，37°C诱导 2-4 小时或 16°C诱导过夜。
(低温诱导方法: 37°C，200 rpm 震荡培养细菌到 1-2 个 OD 左右，然后将培养物降温至 16-20°C，低温培养 15 分钟达到平衡，将 IPTG 添加到摇瓶中，最终浓度达到为 0.1-0.5 mM 之间。继续诱导培养 12-24 小时。)
- 4.诱导完成后，离心收集菌体，用合适的方法（如考马斯亮蓝染胶法，Western-Blot 法或酶活性分析法）分析菌体裂解物的总蛋白、上清和沉淀组分，明确表达产物的表达状况（可溶性或不溶性表达）。
- 5.大量表达时，可用 10 ml 过夜培养物转接到 1 L 培养基中，当培养到 OD₆₀₀=0.4-0.8 时，加入终浓度为 0.4 mM 的 IPTG，37°C诱导 2-4 小时或 16°C诱导过夜。不同蛋白表达的最佳条件有所不同，需在实验中优化。

20240620