天净沙系列

CAT#:26-041

干冰运输、-80℃保存

天净沙

# 大肠杆菌 BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL 化学感受态细胞

*E. coli* BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL Chemical Competent Cell

## 使用手册 V0.8

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

## 产品及特点

本产品是大肠杆菌 BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL 菌株经特殊工艺处理得到的化学感受态细胞，BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL 菌株含有 pACYC 质粒，补充大肠杆菌缺乏的 4 种稀有密码子（AGA，AUA，CCC，CUA）对应的 tRNA (argU, ileY, proL, leuW)，提高外源基因，尤其是富含 AT-或 GC-的真核基因在原核系统中的表达水平。该菌株染色体整合了 λ 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，同时具有四环素，氯霉素，链霉素，壮观霉素抗性。

该菌株的基因型为：$F^-$ *ompT* *hsdS* ($rB^-mB^-$) *dcm*+ $Tet^R$ *gal* λ(DE3) *endA* Hte [*arg*U *pro*L $Cam^R$] [*arg*U *ileY* *leu*W $Strep/Spec^R$]

本产品具有以下特点：

1. 缺少 Lon 蛋白酶和 OmpT 蛋白酶，减少对重组蛋白的降解。
2. 含有 pACYC 质粒，提高外源基因，富含 AT-或 GC-的真核基因在原核系统中的表达水平。
3. 整合了λ噬菌体 DE3 区，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。
4. 具有四环素，氯霉素，链霉素，壮观霉素抗性。
5. pUC19 质粒（2686 bp，$Amp^R$）检测转化效率>1E8 cfu/μg DNA。
6. 本产品足够 10 次 100 μL 的转化实验。
7. 本产品只可用于科研。

## 规格及成分

本产品采用塑料袋包装

| 成分 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| 大肠杆菌 BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL 化学感受态细胞 | 26-041a | 100 μL×10 | 1.5 mL 本色管 |
| pUC19（10 pg/μL)) | 26-041b | 10 μL | 1.5 mL 本色管 |
| 使用手册 | 26-041sc | 1 份 | 无 |

## 运输及保存

干冰运输，-80℃保存，有效期为 6 个月

## 自备物品

质粒，EP 管，0.9% NaCl。

## 使用方法

**一、实验方法**

1. 大肠杆菌 BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL 化学感受态细胞从-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 管底轻轻混匀（避免用枪吸打），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。<br>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 转/分钟复苏 60 分钟。<br>4. 5000×g 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 34 μg/mL 氯霉素及所选质粒筛选抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。（氯霉素配制：氯霉素 (Chloramphenicol) 100 mg/mL 溶于乙醇，完全溶解后用 0.22 um 的滤膜过滤除菌；工作浓度：34 μg/mL)<br>5. 将平板倒置放于 37℃培养箱过夜培养。<br>**二、注意事项：**<br>6. 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，混入质粒时应轻柔操作。<br>7. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。<br>8. BL21-CodonPlus (DE3)-RIPL 菌株携带 pACYC 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 μg/mL 氯霉素，以防质粒丢失。 |
| **关联产品** | *Pichia pastoris* 巴斯德毕赤酵母 Pichiapink-4 化学感受态细胞 |