



T7 Express 感受态细胞

T7 Express Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1226

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1226-1	T7 Express 感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC1226-2	T7 Express 感受态细胞	20×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl) 5μl (质量控制用)。
储存: -70°C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 T7 Express 感受态细胞是采用特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测, 转化效率 10^7 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: fhuA2 lacZ::T7 gene1 [lon] ompT gal sulA11 R(mcr-73::miniTn10--TetS)2 [dcm] R(zgb-210::Tn10--TetS) endA1 (mcrCmrr)114::IS10

产品特点:

T7 Express 菌株为大肠杆菌 BL21 增强型菌株, 为 Lon 和 OmpT 蛋白酶缺陷型, 主要适用于含有 T7 启动子的原核表达载体 (如 pET 等) 的蛋白表达, 同样适用于需要大肠杆菌 RNA 聚合酶来转录 RNA 的非 T7 启动子的表达载体 (如 pGEX 等)。该菌株区别于 BL21 (DE3) 菌株的优势在于 T7 RNA 聚合酶基因整合在细菌染色体上的 lac 操纵子区域, 基因组中无 λ 前噬菌体序列, 并具有抗 T1 噬菌体感染等特点。

操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:**取感受态细胞置于冰浴中(解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置 30 分钟。
注意:所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:**将离心管置于 42°C 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- **复苏:**向每个离心管中加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37°C 180rpm 摇床振荡培养 45-60 分钟, 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
- **涂板:**根据实验要求 (质粒, 重组连接产物转化), 吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37°C 培养 12-16 小时。

提示:

- 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下, 半小时内活性无明显变化, 因此, 同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70°C, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 请在无菌条件下, 根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸, 整个过程要轻柔, 尽量低温操作。
- 为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接反应液, 以重新转化, 将损失降到最低。
- 诱导时, IPTG 浓度可选 (0.1-2mM 均可)。
- 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。