



T7pLysY 感受态细胞

T7pLysY Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1227

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1227-1	T7pLysY 感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC1227-2	T7pLysY 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 T7pLysY 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: fhuA2lacZ::T7gene1[lon]ompTgalsulA11R(mcr-73::miniTn10--TetS)2[dcml]R(zgb-210::Tn10--TetS)endA1D(mcrC-mrr)114::IS10 lysY (Cam^R)

产品特点:

T7pLysY 菌株为大肠杆菌 BL21 增强型菌株, 为 Lon 和 OmpT 蛋白酶缺陷型, 用于毒性或非毒性蛋白的表达。该菌株区别于 BL21(DE3)pLysS 和 BL21(DE3)pLysE 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, LysY 表达的 T7 溶菌酶保留了对 T7 RNA 聚合酶的抑制作用但缺失了水解细胞壁的酰胺酶活性, 有利于降低基因的背景表达和避免诱导过程中细菌的裂解, 菌株具有抗 T1 噬菌体感染等特点。对氨基青霉素, 壮观霉素, 卡那霉素, 链霉素和四环素敏感, 对氯霉素有抗性。

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 ($0.1\text{-}2\text{mM}$ 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。

蛋白步骤：

1. 挑取单菌落，接种到 5ml 含 $34\mu\text{g/ml}$ 氯霉素及所选质粒筛选抗生素的 LB 培养基中。
2. 37°C ，200rpm 震荡培养细菌至对数生长期 ($\text{OD}_{600}=0.4\text{-}0.8$)。
3. 加入 IPTG 到终浓度为 0.4mM ， 37°C 诱导 2-4 小时或 16°C 诱导过夜。
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 10ml 过夜培养物转接到 1L 培养基中，当培养到 $\text{OD}_{600}=0.4\text{-}0.8$ 时，加入终浓度为 0.4mM 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）。

ZOMANBIO