

Tuner (DE3) pLysS 感受态细胞

Tuner (DE3) pLysS Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G2059

保存条件: -80℃

产品规格: 10×100μl 50×100μl

产品介绍

基 因 型

F -ompT hsdSB(rB- mB-) gal dcm lacY1 (DE3)pLysS CamR

简 要 说 明

Tuner(DE3)菌株是 BL21 菌株的 lacZY 基因 (半乳糖苷透性酶基因)突变株, 此

突变导致 IPTG 以均一速度进入体系中大肠杆菌的每个细胞，产生更加严格、均一的浓度依赖。将具有氯霉素抗性的 pLysS 质粒导入 Tuner(DE3)细胞中即是 Tuner(DE3) pLysS，pLysS 表达 T7 溶菌酶，T7 溶菌酶可以与 T7 RNA 聚合酶结合抑制其转录活性，进而降低目的基因的背景表达水平，但不干扰 IPTG 诱导的表达，非常适合毒性蛋白的原核表达。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。Tuner(DE3)pLysS 感受态细胞由特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率达 10^7 cfu/ μ g DNA。

操 作 说 明

1. 取 100 μ l 冰上融化的 Tuner (DE3) pLysS 感受态细胞，加入目的质粒并轻轻混匀，冰上静置 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。
3. 向离心管中加入 700 μ l 不含抗生素的无菌培养基(2YT 或 LB)，混匀后 37℃，200rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000rpm 离心一分钟收菌，留取 100 μ l 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37℃ 培养箱过夜培养。

注 意 事 项

1. 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。
2. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
3. 诱导时，IPTG 浓度可选（0.1-10 mM 均可）。
4. 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。
5. Tuner (DE3) pLysS 菌株携带 pLysS 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 $\mu\text{g/ml}$ 氯霉素，以防质粒丢失。