

描述: BL21(DE3) Chaprone 感受态细胞中含有分子伴侣蛋白质粒, 其表达产物可协助重组蛋白正确折叠形成可溶性蛋白。分子伴侣蛋白质粒为氯霉素抗性 (chloramphenicol, Cm^r) 的表达受控于四环素 (tet^R) 操纵子, 因此该感受态不适用于氯霉素抗性表达质粒的转化。

本品使用 HaiGene 独有的化学感受态专利技术制备, 其室温可保存 3 天、-20°C 可保存 2 年 (推荐保存温度)、-80°C 可长期保存性能无下降。运输过程中无需干冰, 可常规冰袋运输 (推荐运输温度)。该感受态细胞为热激感受态细胞, 转用于蛋白表达 (不可用于克隆和载体构建), 经 42°C 热激 1min 可获得 $10^5 \sim 10^6$ cfu/ μ g 效价, 可满足质粒转化要求。该制品使用简单、运输、储存方便。

组分

RTS BL21(DE3)Chaprone Competent Cell (10T)	1 瓶
Nano E.coli Transfection Reagent	1 mL

储存: RTS 系列感受态为干粉形式, 均可室温保存 3 天, 长期保存 -20°C (2 年)。经 Nano E.coli Transfection Reagent 溶解后的感受态必须分装后, 并于 -60°C 以下保存。溶解后的感受态细胞避免反复冻融, 在 -60°C 以下可保存 6 个月。

操作方法

1. 从 -20°C 冰箱中取出 Nano E.coli Transfection Reagent 彻底融化, 放置于冰上。取 300 μ l Nano E.coli Transfection Reagent 加入到一支冻干感受态细胞中, 并分装到 10 支 1.5 ml EP 管中 (每支 30 μ l), 于 -60°C 以下保存 (或立即使用)。
2. 将 10~100 ng 质粒 DNA (不可使用连接产物、不可使用氯霉素筛选标记质粒) 加入到分装的感受态细胞中, 轻弹 EP 管 (或枪头轻轻敲打), 置于冰上 15min。
3. 置于 42°C 热激 1 min 后, 迅速置于冰上急冷 2 min。
4. 热激完毕后, 向上述感受态细胞中加入 450 μ L 不含抗生素的 SOC (或 LB) 培养基, 37°C 振荡 (225 rpm) 培养 60 min。使质粒上抗性标记基因表达, 菌体复苏。
5. 取 200 μ l 复苏菌液涂布到含相应抗生素的 LB 琼脂平板表面。(含相应质粒抗生素和 20 μ g/ml 氯霉素)
6. 将平板置于 37°C 培养, 12~18 小时后可出现菌落。

7. 挑选生长良好的菌落, 接入 LB 培养基 (含相应质粒抗生素, 20 μ g/ml 氯霉素), 37°C 剧烈振荡培养过夜。

8. 1/50 比例接入新的 LB 培养基 (含相应质粒抗生素, 20 μ g/ml 氯霉素, 0.5 mg/ml L-阿拉伯糖) 37°C 剧烈振荡培养至菌体密度 OD₆₀₀ 约 0.3 (约 2h)。

9. 加入终浓度 2 ng/ml 四环素 (诱导 chaprone 伴侣蛋白表达), 37°C 剧烈振荡培养至 OD₆₀₀ 约 0.5 (约 2~4h)。

10. 加入适量 IPTG (0.1-1 mM), 15°C 振荡培养 24h (培养摇床无法制冷条件下, 室温诱导 8~12h)。

11. 4,000 rpm 室温离心 15 min, 收集细胞, 进行蛋白表达和可溶性表达分析。

相关试剂配制:

1000 \times 四环素 (2 μ g/ml): 取 0.2 mg 四环素盐酸盐 (SigmaT3383), 加入至 100ml 灭菌水中溶解。

1700 \times 氯霉素 (34 mg/ml): 取 340 mg 氯霉素 (Sigma C0378), 加入至 10 ml 乙醇中溶解。

200 \times L-阿拉伯糖 (100 mg/ml): 取 1 g L-阿拉伯糖 (Sigma A3256), 加入至 10 ml 灭菌水中溶解。