



BLR(DE3)大肠杆菌化学感受态细胞

产品信息:

组成	BC227-01
BLR(DE3)大肠杆菌化学感受态细胞	10×100μl
pUC19 (0.1ng/μl)	10μl

储存条件: -70℃保存，避免反复冻融。

产品介绍:

BLR(DE3)菌株是在 BL21(DE3)基础上改造而成的衍生菌株。引入了 *recA* 突变，该特性有助于维持原核表达质粒在宿主内的稳定性，因此特别适用于表达含有不稳定 DNA 序列或重复序列的基因。该菌株的染色体整合有λ噬菌体的 DE3 区，能够表达 T7 RNA 聚合酶。因此，它不仅适用于基于 T7 启动子的 pET 系列表达质粒，也兼容大肠杆菌 RNA 聚合酶识别的 Lac、Tac 等启动子（如 pGEX、pMAL 系列）。BLR(DE3)的完整基因组序列已存入 GenBank, 登录号为 CP020368。BLR(DE3)感受态细胞经特殊工艺制备的，其转化效率经 pUC19 质粒检测，通常可超过 10^7 cfu/μg。

基因型: *F-ompT hsdSB(rB- mB-) gal lac ile dcm Δ(srl-recA)i306::Tn10 (tetR)(DE3)*

菌株抗性特点: 该菌株有四环素抗性，但对氨苄青霉素、壮观霉素、卡那霉素、链霉素和氯霉素敏感。

质粒转化步骤

1. 取感受态细胞置于冰水浴中解冻。待其刚刚融化时，加入目的质粒 DNA 或 5–10 μl 连接产物，用手指轻弹管，混匀。
2. 将混合物继续在冰水浴中静置 30 分钟，期间请勿晃动。
3. 迅速转移至 42℃水浴，热激 60 秒，过程中勿移动离心管。
4. 立即放回冰水浴，静置 2 分钟，勿晃动。
5. 加入 500-1000 μl 无菌 SOC 或 LB 等复苏培养基。
6. 置于 37℃摇床中，以 150–200 rpm 振荡培养 60 分钟，进行复苏。
7. 取 50–100 μl 菌液，涂布于含相应抗生素的 LB 平板上。待菌液被平板吸收后，倒置平板，于 37℃培养 12–16 小时。

附：平板划线分离法（可选）

1. 复苏培养结束后，12,000 rpm 离心 30 秒，弃去大部分上清，保留约 100 μl。
2. 使用 200 μl 吸头轻柔吹打，重悬菌体。
3. 取 10-50 μl 菌液，在抗性平板的不同位置点若干液滴。
4. 倾斜吸头，以其侧面将液滴在平板表面来回交叉划线将液滴划开。
5. 待平板稍干后，倒置平板并于 37℃培养 12–16 小时。

蛋白表达步骤:

1. 挑取单菌落，接种到含 5ml 含抗生素的 LB 培养基中过夜培养。
2. 第 2 天用 0.1 ml 过夜培养物（1:50 比例接菌）接种到 5 ml 含抗生素的 LB 培养液中。
3. 37℃，200 rpm 震荡培养细菌至对数生长期（OD₆₀₀=0.4-0.8）。
4. 每管中加入 IPTG 到终浓度为 0.4 mM，IPTG 浓度诱导 4 小时。
5. 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，明确产物的表达状况（可溶性或不溶性表达）。
6. 大规模诱导培养，制备 1 升含有抗生素的液体培养基，用新生长的菌落或 10 毫升新生长的培养物接种。在 37℃ 下培养，直到 OD₆₀₀ 达到 0.4-0.8。加入终浓度为 0.4 mM 的 IPTG，使用小规模试验中确定的最佳时间/温度表达蛋白质。不同蛋白表达的最佳条件有所不同，需在实验中优化。