

# Tuner(DE3)感受态细胞

## Tuner(DE3)Chemically Competent Cell

保存条件： -80℃

产品规格:

Tuner (DE3)	10×100μl
pUC19 (control vector)	10pg/μl; 10μl

基 因 型

F<sup>-</sup> *ompT hsdS<sub>B</sub>(r<sub>B</sub><sup>-</sup> m<sub>B</sub><sup>-</sup>) gal dcm lacY1* (DE3)

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。此菌株用于高效表达克隆于含有噬菌体 T7 启动子的表达载体(如 pET 系列)的基因。 $\lambda$  噬菌体 DE3 区含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶，该区整合于 Tuner 的染色体上，所以称为 Tuner (DE3)，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) 感受态细胞由特殊工艺制作，经 pUC19 质粒检测转化效率达 10<sup>7</sup>cfu/μg。

操 作 说 明

1. 取 100μl 冰上融化的 Tuner (DE3) 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 700μl 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 100μl 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上融化。
2. 混入质粒时应轻柔操作
3. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 诱导时，IPTG 浓度可选（0.1-40mM 均可）。
5. 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。