

# 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。λ 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。