

公司产品仅供科学研究使用、不得用于临床诊断！

商品属性：

产品名称	规格	货号
RTS BL21 (DE3) Chaprone助溶表达感受态	10T	A-PJ1094

**描述：**BL21(DE3) Chaprone 感受态细胞中含有分子伴侣蛋白颗粒，其表达产物可协助重组蛋白正确折叠形成可溶性蛋白。分子伴侣蛋白颗粒为氯霉素抗性 (chloramphenicol, Cm<sup>r</sup>) 的表达受控于四环素 (tetR) 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 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 105~106 cfu/μg 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 μl Nano E.coli Transfection Reagent 加入到一支冻干感受态细胞中，并分装到 10 支 1.5ml EP 管中（每支 30 μl），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（或枪头轻轻吹打），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 μL 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 μl 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 μg/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 μg/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 μg/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 OD<sub>600</sub> 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 OD<sub>600</sub> 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。