**Lemo21(DE3)化学感受态**

 产品简介

大肠杆菌 Lemo21(DE3)感受态细胞为 T7 可控表达菌株， 专为表达具有挑战性的重组蛋白而设计 。它 作为 BL21(DE3)的衍生菌株，不仅继承了其特点，还能够通过改变 T7 溶菌酶(lysY)的水平以控制表达水平， T7 溶菌酶为 T7 RNA 聚合酶的天然抑制剂。对蛋白表达的精准控制使得 Lemo21(DE3)成为表达膜蛋白、毒 性蛋白、分泌蛋白以及存在可溶性问题蛋白的理想选择。Lemo21(DE3)感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率>108 cfu/μg DNA。

 产品组成

|  |  |
| --- | --- |
| 组分 | **KW-96169** |
| Lemo21(DE3)化学感受态 | 10 × 100 μL |

基因型：*fhuA2 [lon] omp*T *gal* (λ DE3) *[dcm] ∆hsdS/pLemo*(CamR)DE3 *= λ sBamHIo ∆EcoRI-B int::(lacI::PlacUV5::T7 gene1) i21 ∆nin5 pLemo =* pACYC184-PrhaBAD*-lysY*

 保存条件

-80℃保存； 请勿将本品置于-20℃或者液氮中保存!

 使用方法

1. 解冻感受态细胞：从-80 ℃取感受态细胞，放置在冰浴或冰水浴中融化，约 5- 10 min ，放置时 间过长会影响转化效率。

2. DNA 样品的转化：每 100 μL 感受态加入待转化 DNA 样品(例如质粒、连接产物或重组产物等) 约 10 μL ，然后轻轻弹击管底约 2-3 次，立即冰上静置孵育 30 min。

 加入待转化 DNA 样品体积通常不宜超过感受态细胞体积的 10%。

 加入待转化 DNA 样品后应轻柔操作，避免使用移液枪吹打混匀。

 如果用于质粒的转化扩增，冰浴静置约 10 min 后可以直接涂板并培养过夜；如果用于连接产 物或重组产物的转化，建议冰浴静置 30 分钟并严格执行后续的热激处理和复苏培养等步骤， 以提高转化效率。

3. 热激处理：将冰浴后的离心管快速置于 42℃水浴中，静置热激 90 s 。随后立即转移至冰水浴

中静置 2-3 min 以快速冷却。

 热激及转移至冰浴过程中请勿晃动离心管。

4. 复苏培养：加入 900 μL 37 ℃预热的 LB 或 SOC 培养基，颠倒数次混匀，37℃摇床约 220 rpm 复苏培养 45 min。

5. 收菌涂板：如果用于质粒的转化扩增，建议直接取 50- 100 μL 进行涂板即可；如果用于连接产

物或重组产物的转化，建议先 5000 g ，1 min 室温离心沉淀细菌，吸除约 900-950 μL 上清，然后 用剩余的约 50- 100 μL 菌液重悬，涂布到含相应抗生素的 LB 平板上。

6. 过夜培养：将平板倒置放于 37℃培养箱培养过夜。

 培养前需要将平板在超净台中稍微晾至无明显水渍，有利于形成单克隆。

 注意事项

1. 感受态细胞冰水浴中解冻后应立即使用；

2. 加入的待转化 DNA 的总体积不应超过感受态细胞体积的 1/ 10；

3. 加入待转化 DNA 后， 不要用移液器吹吸感受态细胞， 仅用手指轻弹即可；

4. 为确保更高转化效率， 整个操作过程中除热激外均要保持低温， 并且要尽量轻柔。