



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-1683301或800-8283301  
 订货e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## Tuner(DE3)超级感受态细胞

产品编号	产品名称	包装
D1091S	Tuner(DE3)超级感受态细胞	10×100μl
D1091M	Tuner(DE3)超级感受态细胞	50×100μl

### 产品简介:

- 碧云天生产的Tuner(DE3)超级感受态细胞, 英文名Tuner(DE3) Super Competent Cells, 是一种可以精确控制重组蛋白在所有菌体中均一化表达用的 *E. coli* Tuner(DE3)即用型化学感受态细胞。使用pUC19质粒进行热激活转化, 在严格按照使用说明进行操作时, 转化效率可以达到 $1.0 \pm 0.5 \times 10^7$  cfu/μg DNA。
- 很多原核表达系统利用IPTG诱导重组蛋白在BL21菌株中完成表达, 这种诱导具有随机效应, IPTG低浓度时只能在少数几个细胞中出现重组蛋白表达。要使所有细胞都表达, 往往需要极高浓度的IPTG, 且单个细胞内的重组蛋白水平差异较大。这种IPTG浓度带来的开-关效应让重组蛋白的得率难以控制。
- Tuner(DE3)菌株解决了该弊端, 确保了重组蛋白在所有细胞中均一化表达, 且得率和IPTG的浓度呈现一定程度的正相关性。
- Tuner(DE3)是 *lon* 和 *ompT* 蛋白酶缺陷型的B菌株, 也是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。 $\lambda$ 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), 它可同时表达T7 RNA聚合酶和大肠杆菌RNA聚合酶, 从而用于pET系列、pGEX、pMAL等质粒的蛋白表达。
- Tuner(DE3)菌株的基因型为  $F^- ompT hsdS_B(r_B^-, m_B^-) gal dcm lacY1 (DE3) [1]$ 。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D1091S	Tuner(DE3)超级感受态细胞	10×100μl
D1091M	Tuner(DE3)超级感受态细胞	50×100μl
—	说明书	1份

### 保存条件:

-80°C保存, 一年内有效。避免反复冻融, 通常制备6个月后转化效率随保存时间延长而逐渐降低。

### 注意事项:

- 感受态细胞禁止反复冻融, 并应尽可能避免冻融, 反复冻融会导致转化效率大幅下降。
- 感受态细胞融化后, 须尽快加入待转化样品, 不宜在无转化产物的情况下放置时间超过10分钟或以上时间, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 待转化样品的体积通常不宜超过感受态细胞体积的10%, 样品体积过大会导致转化效率下降。
- 感受态细胞对于温度变化非常敏感, 需要避免出现不应有的使用说明之外的温度变化。
- 感受态细胞对于机械力非常敏感。加入待转化样品时应轻柔操作, 不能使用移液枪吹打混匀。
- 通常仅建议取部分样品用于转化, 这样万一遇到转化失败的情况, 还留有样品可以再次进行转化。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明:

- 解冻感受态细胞。**取感受态细胞放置冰浴或冰水浴中融化, 通常需要5分钟以上的时间。解冻后须尽量在10分钟内使用, 放置时间过长会影响转化效率。
- DNA样品的转化。**取一管感受态细胞, 加入DNA样品, 例如质粒、连接产物或重组产物等, 轻轻弹击管底约2-3次或轻轻晃动约2-3次以混匀, 立即冰浴静置30分钟。**注:**所用DNA体积通常不宜超过感受态细胞体积的10%, 混合时不得使用移液器进行吹打。如果用于质粒的转化扩增, 冰浴静置约10分钟, 后续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。
- 热激处理。**将冰浴放置的离心管快速置于42°C水浴中, 静置热激45秒。随后立即转移至冰水浴中静置2分钟以快速冷却至接近零度。热激及转移至冰浴过程中切勿晃动离心管。
- 复苏培养。**加入900μl不含抗生素的LB培养基, 颠倒数次混匀, 37°C摇床约150rpm复苏培养1小时。如果用于质粒的转化扩增, 复苏培养10-20分钟也完全足够了; 如果用于连接产物或重组产物的转化, 建议严格进行复苏培养操作。
- 收菌涂板。**约5000×g室温离心1分钟, 沉淀细菌, 吸除约900-950μl上清, 余下约50-100μl上清。用移液器轻轻吹打并重悬菌

体，随后涂布到含相应抗生素的LB平板上。注：如果用于质粒的转化扩增，可以仅取少量进行涂板；如果用于连接产物或重组产物的转化，建议取所有重悬的菌液涂板。

6. 将平板倒置放于37°C培养箱培养过夜。

#### 参考文献：

1. Speer SL, Guseman AJ, Patteson JB, Ehrmann BM, Pielak GJ. Protein Sci. 2019. 28(7):1307-1311.

#### 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0301	一步法感受态细菌制备试剂盒	200次
D0302	超级感受态细菌制备试剂盒	100次
D0303	农杆菌感受态制备试剂盒	100次
D0391	细菌冻存液	50ml
ST156	BeyoPure™ LB Broth (premixed powder)	10瓶共5升
ST158	BeyoPure™ LB Broth with Agar (premixed powder)	10瓶共5升
ST800	Tryptone/胰蛋白胨	500g
ST802	BeyoPure™ Tryptone/BeyoPure™胰蛋白胨	500g
ST968	Yeast extract/酵母膏	500g
ST969	BeyoPure™ Yeast Extract/BeyoPure™酵母膏	500g
ST004D	Agar (琼脂粉)	100g
ST004E	Agar	500g
ST007	Ampicillin	5g
ST008	Ampicillin (100mg/ml,1000X)	5ml
ST101	Kanamycin	1g
ST102	Kanamycin (10mg/ml,1000X)	5ml
D1001S/M	ArcticExpress(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1003S/M	ArcticExpress (DE3) pRARE2超级感受态细胞	10/50×100μl
D1005S/M	BJ5183超级感受态细胞	10/50×100μl
D1007S/M	BJ5183-AD-1超级感受态细胞	10/50×100μl
D1009S/M	BL21超级感受态细胞	10/50×100μl
D1011S/M	BL21(AI)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1013S/M	BL21(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1015S/M	BL21(DE3) PLysS超级感受态细胞	10/50×100μl
D1017S/M	BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL超级感受态细胞	10/50×100μl
D1019S/M	BL21 Star(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1021S/M	BL21 Star (DE3)pLysS超级感受态细胞	10/50×100μl
D1023S/M	C43(DE3)PLysS超级感受态细胞	10/50×100μl
D1025S/M	DB3.1超级感受态细胞	10/50×100μl
D1027S/M	DH10B超级感受态细胞	10/50×100μl
D1029S/M	DH10Bac超级感受态细胞	10/50×100μl
D1033S/M	DH5α λpir超级感受态细胞	10/50×100μl
D1035S/M	EPI300超级感受态细胞	10/50×100μl
D1037S/M	EPI400超级感受态细胞	10/50×100μl
D1039S/M	ER2566超级感受态细胞	10/50×100μl
D1041S/M	GT115超级感受态细胞	10/50×100μl
D1043S/M	HB101超级感受态细胞	10/50×100μl
D1045S/M	HT115(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1047S/M	JM109超级感受态细胞	20/100×100μl
D1049S/M	JM109(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1051S/M	JM110超级感受态细胞	10/50×100μl
D1053S/M	Mach1-T1超级感受态细胞	20/100×100μl
D1055S/M	MG1655超级感受态细胞	10/50×100μl
D1057S/M	Origami2(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl

D1059S/M	OrigamiB(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1061S/M	OrigamiB(DE3)pLyss超级感受态细胞	10/50×100μl
D1063S/M	OverExpress C43(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1065S/M	Rosetta(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1067S/M	Rosetta2(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1069S/M	Rosetta-gami 2(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1071S/M	Rosetta-gami B(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1073S/M	Rosetta-gami(DE3)pLyss超级感受态细胞	10/50×100μl
D1075S/M	S17-1λpir超级感受态细胞	10/50×100μl
D1077S/M	Stable超级感受态细胞	10/50×100μl
D1079S/M	Stbl2超级感受态细胞	10/50×100μl
D1081S/M	Stbl3超级感受态细胞	10/50×100μl
D1083S/M	SURE超级感受态细胞	10/50×100μl
D1085S/M	TG1超级感受态细胞	10/50×100μl
D1087S/M	TOP10超级感受态细胞	20/100×100μl
D1089S/M	TOP10F`超级感受态细胞	10/50×100μl
D1091S/M	Tuner(DE3)超级感受态细胞	10/50×100μl
D1093S/M	Turbo超级感受态细胞	10/50×100μl
D1095S/M	XL10-Gold超级感受态细胞	10/50×100μl
D1097S/M	XL1-Blue超级感受态细胞	10/50×100μl
D1099S/M	XL2-Blue超级感受态细胞	10/50×100μl

Version 2024.08.01