

SCK6 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格和内容

产品内容	货号: Bsc1040S	货号: Bsc1040M	保存条件/时间
SCK6 Competent Cell	100μl/ 10 支	100μl/ 50 支	-80°C (6 个月)
pHT10 (control vector, 10 ng/μl)	10μl/ 1 支	10μl/ 1 支	-80°C (6 个月)
枯草孵育培养基 BsLB	300μl/ 1 支	1.5ml/ 1 支	常温 (6 个月)

● **基因型:** his, nprR2, nprE18, ΔaprA3, ΔegIS102, ΔbgIT, bgIS, lacA::PxylA-comK Erm^R

● 产品说明

枯草芽孢杆菌是革兰氏阳性菌，细胞壁不含脂多糖（LPS），表达的蛋白无需额外去除内毒素，适合医药或食品级应用；天然具有高效的分泌系统，可将目标蛋白直接分泌到培养基中，简化纯化步骤；多数情况下无包涵体问题，表达的可溶性蛋白正确折叠，尤其适合含二硫键的蛋白（胞外环境有助于氧化折叠）；培养简单，生长快，普通 LB 培养基、37°C 振荡即可快速生长，发酵工艺成熟。SCK6 菌株是 1A751 的衍生菌株，是 1A751 经 pAX01-comK 双交换整合获得的重组菌株，在 lacA 位点插入木糖诱导型 comK 表达盒（comK 为感受态主调控因子），可提高转化效率，常用于构建枯草芽孢杆菌文库。nprR2, nprE18: 中性蛋白酶 NprE 相关基因缺陷；ΔaprA3: 碱性蛋白酶基因 aprA3 缺失，进一步降低蛋白酶活性，适合外源蛋白表达；ΔegIS102, ΔbgIT, bgIS: 敲除/失活了自身纤维素酶、β-葡聚糖酶基因，本底酶活极低，适合做纤维素酶筛选实验。SCK6 化转感受态细胞经特殊工艺制作，pHT10 质粒（5826bp）检测转化效率 > 1 × 10⁴ cfu/μg DNA。

● 操作方法

1. SCK6 感受态细胞从 -80°C 拿出，迅速插入冰中，待感受态融化，加入目的质粒并用手拨打 EP 管底混匀。
2. EP 管插入浮漂中，放 37°C 孵育 1 小时。
3. 每管加入 20ul 枯草孵育培养基 BsLB，混匀后继续放 37°C 孵育 1-2 小时。
4. 拿出 EP 管，5000 rpm 离心一分钟收菌，留取 50 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 LB 平板上。将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养至少 15 小时。

● 抗生素使用浓度:

大部分枯草芽孢杆菌表达质粒（pDG364、pHT43、pHT1469、pHT254【唯地货号: PB1011、PB1021、PB1031、PB1041】等）使用氯霉素进行筛选，SCK6 使用的筛选浓度是 5ug/ml(氯霉素溶液唯地货号: YC9030L)

● LB液体培养基货号: CM1010L;LB 固体培养基货号: CM1010S。

● 注意事项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化。插入冰中 8 分钟内加入目标 DNA，长时间存放会降低转化效率。
2. 加入枯草孵育培养基 BsLB 后，孵育 2 小时的转化效率相比孵育 1 小时可提高 30%。
3. 枯草芽孢杆菌表达系统可用 IPTG 诱导型质粒或木糖诱导型质粒，当用 IPTG 诱导时，尽量使用不含乳糖的原料，若原料（蛋白胨，酵母粉等）中含有乳糖，会有严重的泄露表达（泄露表达是指不加诱导剂时目标蛋白的背景表达，大部分时候不影响试验）。
4. pHT10 质粒为唯地生物优化后序列，去除一些非必须元件，添加额外的酶切位点，试验者可自行在 MCS 区添加各种适合枯草芽孢杆菌的蛋白表达框（组成型/诱导型），可同时添加 2-3 个独立的蛋白表达框同时表达 2-3 个蛋白。