

ArcticExpress(DE3)感受态细胞

● 产品规格

ArcticExpress(DE3) 感受态细胞 100 μ l*10

● 储存条件

-80°C(12 个月)

● 基因型

E. coli B F- ompT hsdS(rB- mB-) dcm+ TetR gal λ (DE3) endA Hte [cpn10cpn60 GentR]

● 产品简介

ArcticExpress (DE3)来源于 E. coli B, 为 Lon 和 OmpT 蛋白酶缺陷型菌株, 可促进表达蛋白的稳定。ArcticExpress (DE3)菌株染色体 DNA 中整合了 λ 噬菌体 DE3 区, 使得 ArcticExpress (DE3)菌株可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 广泛用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。ArcticExpress (DE3)菌株具有四环素, 庆大霉素抗性, endA1 突变有利于质粒 DNA 的稳定。[cpn10cpn60 GentR]的存在使 ArcticExpress (DE3)可以表达适应低温的伴侣蛋白 Cpn10 和 Cpn60 (来自嗜冷菌—*Oleispira antarctica*)。Cpn10 和 Cpn60 伴侣蛋白在 4-12°C表现出较高活性, 在 ArcticExpress(DE3)细胞中表达时, 可降低重组蛋白包涵体的形成, 增加可溶重组蛋白的表达量及生物活性, 比传统的原核表达伴侣蛋白 GroEL、GroES 等具有更加优异的促融性能。ArcticExpress (DE3)感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, AmpR) 检测转化效率 $>10^8$ cfu/ μ g DNA

● 使用说明

- 1). 取 100ul 感受态细胞置于冰浴中融化。
- 2). 待感受态细胞融化后, 向感受态细胞悬液中加入目的 DNA (根据实际情况加入适量的 DNA, 通常 100 μ l 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和), 用移液器轻轻吹打混匀, 静置冰浴 30min。
- 3). 42°C热击 45sec, 然后快速将离心管转移到冰浴中静置 2-3min, 该过程不要摇动离心管。
- 4). 每个离心管中加入 450ul 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37°C摇床, 150 rpm 振荡培养 45~60min 使菌体复苏。
- 5). 根据实验需求, 取适量已转化的感受态细胞, 加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 用无菌的涂布棒将细胞均匀涂开, 将平板置于 37°C直至液体被吸收, 倒置培养, 37°C培养 12~16h。

● 注意事项

- 1). 刚化冻的细胞转化效率最高, 避免反复化冻。
- 2). 整个动作要轻柔, 质粒质量和浓度等的差异会使转化效率有所下降。

***本试剂仅供实验室研究使用**