

E.coli Rosetta(DE3) 感受态细胞

● 产品规格

E.coli Rosetta(DE3) 感受态细胞 100 μ l*10

● 储存条件

-80 $^{\circ}$ C(12个月)

● 基因型

F-ompT hsdSB(rB-mB-)gal dcm(DE3) pRARE(argU, argW, ileX, glyT, leuW, proL)(CamR)

● 产品简介

本产品是采用大肠杆菌 E.coli Rosetta(DE3) 感受态细胞菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞。补充 6 种稀有密码子 (AUA, AGG, AGA, CUA, CCC, GGA), 提高外源基因, 尤其是真核基因在原核系统中的表达水平。

特点: 1. 含有 pRARE 质粒, 补充大肠杆菌缺乏的 6 种稀有密码子(AUA, AGG, AGA, CUA, CCC, GGA)对应的 tRNA, 提高外源基因, 尤其是真核基因在原核系统中的表达水平。2. 菌株染色体整合了 λ 噬菌体 DE3 区 (DE3 区含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶), 同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 可用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。具氯霉素抗性。pUC19 质粒检测, 转化效率可达 108cfu/ μ g DNA。

● 使用说明

1. 取 100 μ l 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 1 ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和), 用移液器轻轻吹打混匀, 冰浴 30min。
3. 42 $^{\circ}$ C热击 45sec, 然后快速将离心管转移到冰浴中, 冰上静置 2-3min, 该过程不要摇动离心管。
4. 每个离心管中加入 450 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C直至液体被吸收, 倒置培养, 37 $^{\circ}$ 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. 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**