

Rosetta-gami 2(DE3) 感受态细胞

● 产品规格

Rosetta-gami 2(DE3) 感受态细胞 100μl*10

● 储存条件

-80℃(12 个月)

● 基因型

Δ(ara-leu)7697 DlacX74 DphoA PvuII phoR araD139 ahpC galE galK rpsL (DE3) F' [lac+ lacIq pro]
gor522::Tn10 trxB pRARE2 (CamR, StrR, TetR)

● 产品简介

本产品是采用大肠杆菌 Rosetta-gami 2(DE3) 感受态细胞菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞。Rosetta-gami2(DE3) 菌株集合了 Rosetta 2 和 Origami 2 两种菌株的优点。

特点：1 . pRARE2 赋予其 Rosetta2 菌株的优点——补充大肠杆菌缺乏的 7 种稀有密码子(AUA, AGG, AGA, CUA, CCC, GGA 和 CGG)对应的 tRNA，提高外源基因的表达水平。2 . gor522::Tn10 trxB 赋予其 Origami2 菌株的优点——突变的硫氧还蛋白还原酶(thioredoxin reductase) (trxB)和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase) (gor)基因，它们是还原途径的两个关键酶，其突变有利于高效形成正确折叠的含有二硫键的蛋白，增强蛋白的可溶性；同时该菌株不具有卡那霉素抗性，可用于具有卡那霉素抗性质粒的蛋白表达。3 . 该菌株染色体整合了λ噬菌体 DE3 区，含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶，适合 T7 启动子诱导的蛋白表达该菌株适用于 pET 系列载体，及其他 T7 启动子系列载体。具氯霉素，链霉素，四环素抗性。pUC19 质粒检测，转化效率可达 108cfu/μg DNA。

● 使用说明

- 1 . 取 100 μl 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 μl 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℃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 μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素)，混匀后置于 37℃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℃直至液体被吸收，倒置培养，37℃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
3. 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**