

Rosetta-gami B(DE3) 感受态细胞

● 产品规格

Rosetta-gami B(DE3) 感受态细胞 100 μ l*10

● 储存条件

-80°C(12 个月)

● 基因型

F- ompT hsdSB(rB-mB-) gal dcm lacY1 ahpC (DE3) gor522::Tn10 trxB pRARE (Camr, Kanr, Tetr)

● 产品简介

本产品是采用大肠杆菌 Rosetta-gami B(DE3)感受态细胞菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞。Rosetta-gami B(DE3) 菌株聚合了 BL21, Tuner, Origami 和 Rosetta 四种菌株的优点。

特点：1. 来源于 Origami B 系列菌株，是集合了 BL21 系列，Rosetta 系列菌株和 Origami 系列菌株的优点，极大的增强了细胞内二硫键的形成和含有在大肠杆菌中稀有密码子的真核细胞蛋白的表达能力。2. lacY1 基因(半乳糖苷透性酶基因)突变赋予其，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。3. pRARE 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，提高外源基因的表达水平。4. 突变的硫氧还蛋白还原酶(trxB)和谷胱甘肽还原酶 (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。5. 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，及其他 T7 启动子系列载体。Rosetta-gamiB(DE3)菌株具有卡那霉素，氯霉素，四环素抗性。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°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°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. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
3. 诱导时，IPTG 浓度可选 (0.1-2 mM 均可)。
4. 获得需要量的蛋白，最佳诱导时间，温度，IPTG 浓度需实验者优化。

***本试剂仅供实验室研究使用**