

Rosetta-gami(DE3)pLysS 感受态细胞

● 产品规格

Rosetta-gami(DE3)pLysS 感受态细胞 100μl*10

● 储存条件

-80°C(12 个月)

● 基因型

Δ(ara- γ -leu)7697 ΔlacX74 ΔphoA PvuII phoR araD139 ahpC galE galK rpsL (DE3) F'[lac+ lacIq pro]
gor522::Tn10 trxB pLysSRARE (CamR, KanR, StrR, TetR)

● 产品简介

本产品是采用大肠杆菌 Rosetta-gami(DE3)pLysS 感受态细胞菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞。同时集合了 Origami(DE3)和 Rosetta(DE3)的优点,有助于含二硫键蛋白的高效表达,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. Rosetta- γ -gami 系列菌株来源于 Origami 系列宿主菌,该系列菌株的优点除了含有 Origami 菌株原有的 TrxB 和 Gor 基因突变提高含二硫键正确折叠,有助于含二硫键蛋白的高效表达,同时含有 Rosetta 系列菌株中含有的真核细胞稀有密码子。2. 含有 pRARE 质粒,能够提供 AUA, AGG, AGA, CUA, CCC, 和 GGA 六个真核细胞中的稀有密码子 tRNA,能够有效提升真核细胞蛋白的表达水平。3. 含有 pLysS 质粒,能够产生 T7 溶菌酶,可以有效降低目的基因的基础表达水平,的起始复制位点是 p15 Origin,这使得该质粒能够和 pUC- γ -及 pBR322- γ -衍生的质粒互相共存。4. rpsL 突变使得该菌株具有链霉素抗性 DE3 是溶源性的 λ DE3,所以带有 T7 RNA 聚合酶的染色体拷贝。该菌株适用于 pET 系列载体,及其他 T7 启动子系列载体。被建议使用含有 Bla 标记的氨苄抗性表达质粒,具有具有氯霉素,卡那,链霉素和四环素抗性,当使用 pCDF 系列载体时,还需要使用壮观霉素(Spectinomycin)进行筛选。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°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 μl 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℃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**