



Rosetta(DE3) Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC204)

Rosetta(DE3) :	100μl/支
pUC19 (control vector, 0.1ng/μl):	5μl
保存条件(保质期) :	-80°C (6个月)

产品介绍

Rosetta(DE3)菌株具有氯霉素抗性, 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, 该菌株染色体整合了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。Rosetta(DE3)感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19质粒检测转化效率高达 10^7 cfu/μg DNA。

基因型: *F⁻ompT hsdS_B(r_B⁻m_B⁻) gal dcm(DE3) pRARE(argJ, argW, ilex, glyT, leuW, proL) (Cam^R)*

操作方法

1. 取感受态细胞置于冰浴中(解冻1-2分钟), 加入目的DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置25分钟。
注意: 所使用DNA体积不要超过感受态细胞体积的1/10。
2. 将离心管置于42°C水浴中放置60秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却2分钟, 该过程不要摇动离心管。
3. 向每个离心管中加入700μl 无菌的SOC或LB培养基(不含抗生素), 混匀后置于37°C 180rpm 摇床振荡培养45-60分钟, 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
4. 根据实验要求, 吸取适量体积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, 将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37°C培养12-16小时。

注意事项

1. 感受态细胞需要在冰中缓慢融化, 插入冰中10分钟内加入目标DNA, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。
2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作, 避免用移液枪吹吸。
3. 转化高浓度的质粒时可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 感受态细胞应保存在-80°C, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
5. 诱导时, IPTG浓度可选(0.1-2mM均可)。
6. 为获得需要量的蛋白, 最佳诱导时间, 温度, IPTG浓度需实验者优化。