



OrigamiB(DE3)感受态细胞

产品规格 (CAT#: YC205)

BL21(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

OrigamiB(DE3)菌株包含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, 表达主要还原途径的两个关键酶。有利于形成正确折叠的含有二硫键的蛋白, 增强蛋白的可溶性。 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), 可同时表达 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, 具有卡那霉素和四环素抗性, 不能用于具有卡那霉素抗性质粒的表达。

OrigamiB (DE3) 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率达 10^7 cfu/μg DNA。

基因型: *F⁻ompT hsdS_B(r_B⁻m_B⁻) gal dcm lacY1 ahpC (DE3) gor522::Trn10 trxB (Kan^R,Tet^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。

7. 不能用于具有卡那霉素抗性质粒的表达。

8. 由于此感受态细胞转化效率较低;为了更好的实验效果,建议至少转入 100ng 以上质粒,取 1/3 以上复苏后菌液涂板;否则有可能转化失败。

