



## Rosetta 2(DE3) Chemically Competent Cell 产品说明书

### 产品规格 (CAT#: YC211)

Rosetta 2(DE3) :	100 $\mu$ l/支
pUC19 (control vector , 0.1ng/ $\mu$ l):	5 $\mu$ l
保存条件(保质期) :	-80 $^{\circ}$ C ( 6 个月 )

### 产品介绍

Rosetta 2(DE3)菌株来源于 BL21 ,是 BL21 的衍生菌株,为 Lon 蛋白酶和膜外蛋白酶 OMPT 的缺陷型菌株,这两种酶的缺失有效防止异源蛋白在大肠杆菌体内的降解。将具有氯霉素抗性的 pRARE2 质粒导入 BL21 (DE3)细胞中即是 Rosetta 2(DE3), pRARE2 质粒可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。该菌株染色体整合了 $\lambda$ 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。Rosetta 2(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/ $\mu$ g DNA。

**基因型:** F<sup>-</sup> *ompT hsdS<sub>B</sub>(r<sub>B</sub><sup>-</sup> m<sub>B</sub><sup>-</sup>) gal dcm* (DE3) pRARE2 (Cam<sup>R</sup>)

### 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 $^{\circ}$ 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 700 $\mu$ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基(不含抗生素),混匀后置于 37 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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. Rosetta 2(DE3) 菌株携带 pRARE2 质粒, 除复苏培养基为无抗生素外, 其余所用培养基、培养液均应含有 34  $\mu$ g/ml 氯霉素, 以防质粒丢失。