



## Rosetta-gami B(DE3) Chemically Competent Cell 产品说明书

### 产品规格 (CAT#: YC213)

Rosetta-gami B(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-gami B(DE3) 菌株聚合了 BL21, Tuner, Origami 和 Rosetta 四种菌株的优点:

- \* *lacY1* 基因 (半乳糖苷透性酶基因) 突变赋予其 Tuner 菌株的优点——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。
- \* *pRARE* 赋予其 Rosetta 菌株的优点——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。
- \* *gor522::Tn10 trxB* 赋予其 Origami 菌株的优点——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, 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。
- \* 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) 适合 T7 启动子诱导的蛋白表达。
- \* Rosetta-gamiB(DE3)菌株具有卡那霉素, 氯霉素, 四环素抗性, 由特殊工艺制作, 经 pUC19 质粒检测转化效率高达  $10^6$  cfu/μg DNA。

**基因型** : *F<sup>-</sup> ompT hsdSB(r<sub>B</sub><sup>-</sup>m<sub>B</sub><sup>-</sup>) gal dcm lacY1 ahpC (DE3) gor522::Tn10 trxB pRARE (Cam<sup>R</sup>, Kan<sup>R</sup>, Tet<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°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℃，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. 具有卡那霉素抗性，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。