



OverExpress C43(DE3) Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC216)

OverExpress C43(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

OverExpress C43(DE3)、OverExpress C41(DE3)两个菌株均起源于 BL21(DE3), 其优点是可以高效表达毒性蛋白或疏水性蛋白。OverExpress C41(DE3)跟 BL21(DE3)的区别在于其基因组合有至少一个未知突变, 这个未知突变使其获得了高效表达毒性蛋白 (1-5)的能力, 此突变位点参与大肠杆菌表达毒性蛋白时的细胞死亡途径; OverExpress C43(DE3)来源于 OverExpress C41(DE3), 是通过筛选 OverExpress C41(DE3)对另一个不同毒性蛋白的抗性菌株获得。OverExpress C43(DE3)菌株具有比 OverExpress C41(DE3)更强的表达毒性蛋白和疏水性蛋白的能力, 所以说 OverExpress C43(DE3) 菌株与 BL21(DE3)相比拥有至少两个未知突变, 正是这两个未知突变使其获得了更广泛的表达毒性蛋白或疏水性蛋白的能力。此菌株含有 DE3 区, 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。OverExpress C43(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 (DE3)

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。