



ER2566 Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC221)

| | |
|---|-------------------------|
| ER2566 : | 100 μ l/支 |
| pUC19 (control vector, 0.1ng/ μ l): | 5 μ l |
| 保存条件(保质期) : | -80 $^{\circ}$ C (6 个月) |

产品介绍

ER2566 菌株是 NEB 公司开发的具有超高转化效率的蛋白表达原核菌株, 来源于 BL21。Lac 启动子启动下游 T7RNA 聚合酶的表达, 可用于 T7 启动子表达载体(如 pET 系列)的高水平蛋白表达。 *fhuA2* 赋予 ER2566 菌株对噬菌体 T1 的抗性。同时 ER2566 为 *lon* 和 *ompT* 蛋白酶缺陷菌株。 *Lon* 蛋白酶和膜外蛋白酶 OMPT 的缺失能够有效抑制表达的异源蛋白在大肠杆菌体内的降解, $\Delta(mcrC-mrr)114$, *mcr-73* 突变的存在使 ER2566 菌株无法对外源 DNA 进行标记、限制, 提高了外源甲基化 DNA 的转化效率。 ER2566 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/ μ g DNA。

基因型: F⁻ λ - *fhuA2* [*lon*] *ompT* *lacZ*::T7 gene1 *gal* *sulA11* Δ

(*mcrC-mrr*)114::IS10 R(*mcr-73*::miniTn10-TetS)2 R(*zgb-210*::Tn10)(TetS) *endA1* [*dcm*]

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 μ 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。