



## Origami2(DE3)pLysS Chemically Competent Cell 产品说明书

### 产品规格 (CAT#: YC223)

Origami2(DE3)pLysS	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

Origami2(DE3)pLysS 菌株是 K-12 的衍生菌株, 含有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, 其突变有利于含有二硫键蛋白的正确折叠, 增强蛋白的可溶性; 同时该菌株不具有卡那霉素抗性, 可用于具有卡那霉素抗性质粒的蛋白表达。Origami2(DE3)pLysS 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), 该区整合于大肠杆菌的染色体上, 可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达, 该菌株携带的 pLysS 质粒含有表达 T7 溶菌酶的基因, 能够降低目的基因的背景表达水平, 但不干扰 IPTG 诱导的表达, 适合表达毒性蛋白和非毒性蛋白。Origami2(DE3)pLysS 菌株具有氯霉素, 链霉素, 四环素抗性, 为亮氨酸生长缺陷型菌株。Origami2(DE3)pLysS 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率约  $10^6$  cfu/ $\mu$ g DNA。

**基因型:**  $\Delta$ (ara-leu) 7697  $\Delta$ lacX74  $\Delta$ phoA PvuII phoR araD139 ahpC galE galK rpsL F' [lac<sup>+</sup> lacI<sup>f</sup> pro] (DE3) gor522::Tn10 trxB pLysS (Cam<sup>R</sup>, Str<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 $^{\circ}$ 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℃，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. 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。
8. Origami2(DE3)pLysS 菌株携带 pLysS 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 μg/ml 氯霉素，以防质粒丢失。