



HT115(DE3) Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC233)

HT115(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

HT115(DE3)菌株是一类特殊的 RNase III 缺陷型大肠杆菌菌株, 可以饲喂线虫, 主要用于秀丽隐杆线虫 (*C. elegans*) 的 RNAi 干扰试验。该菌株可以在 LB 或 2YT 培养基中正常生长, Tn10 转座子的存在使其具有四环素抗性。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, 在 IPTG 存在时可诱导 T7 RNA 聚合酶大量表达, 进而启动线虫 ds RNA 的表达), 可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 除了用于线虫 RNAi 干扰试验, 也可用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。HT115(DE3) 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率达 10^6 cfu/μg DNA。

基因型 : F- *mcrA mcrB*, IN(*rrnD-rrnE*)1 *rnc14::Tn10(DE3 lavUV5::T7 polymerase)*

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。

7. 进行线虫 RNAi 质粒转化时, 抗生素使用浓度可参考: 氨苄—50ug/ml, 四环素—12.5ug/ml。

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。