



ArcticExpress(DE3) Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC234)

ArcticExpress(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

ArcticExpress (DE3)来源于 E. coli B, 为 Lon 和 OmpT 蛋白酶缺陷型菌株, 可促进表达蛋白的稳定。ArcticExpress (DE3)菌株染色体 DNA 中整合了λ噬菌体 DE3 区, 使得 ArcticExpress (DE3)菌株可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 广泛用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。ArcticExpress (DE3)菌株具有四环素, 庆大霉素抗性, *endA1* 突变有利于质粒 DNA 的稳定。[cpn10cpn60 Gent^r]的存在使 ArcticExpress (DE3)可以表达适应低温的伴侣蛋白 Cpn10 和 Cpn60 (来自嗜冷菌—*Oleispira antarctica*)。Cpn10 和 Cpn60 伴侣蛋白在 4-12°C表现出较高活性, 在 ArcticExpress (DE3)细胞中表达时, 可降低重组蛋白包涵体的形成, 增加可溶重组蛋白的表达量及生物活性, 比传统的原核表达伴侣蛋白 GroEL、GroES 等具有更加优异的促融性能。ArcticExpress (DE3)感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率达 10⁷cfu/μg DNA。

基因型 :

E. coli B F- *ompT hsdS*(rB- mB-) *dcm*+ Tet^r *gal*λ(DE3) *endA Hte* [cpn10cpn60 Gent^r]

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°C180rpm 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(平板中务必同时含有 40ug/ml 的庆大霉素和转化质粒本身的筛选抗生素;若质粒浓度较高,也可稀释后涂板,务必保证能在平板上挑到单克隆菌落) 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. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。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 40ug/ml 的庆大霉素，以防质粒丢失。
8. ArcticExpress (DE3)感受态细胞具有四环素、庆大霉素抗性，不可用于具有四环素、庆大霉素抗性质粒的转化。