



ArcticExpress (DE3) pRARE2 Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC235)

ArcticExpress (DE3) pRARE2 :	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) pRARE2 来源于 ArcticExpress (DE3), 将具有氯霉素抗性的 pRARE2 质粒导入 ArcticExpress (DE3) 细胞中即是 ArcticExpress (DE3) pRARE2。ArcticExpress (DE3) pRARE2 菌株染色体 DNA 中整合了λ噬菌体 DE3 区, 使得 ArcticExpress (DE3) pRARE2 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) pRARE2 菌株具有四环素, 庆大霉素, 氯霉素抗性, *endA1* 突变有利于质粒 DNA 的稳定。[cpn10cpn60 Gent^R]的存在使 ArcticExpress (DE3) pRARE2 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) pRARE2 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能力。同时, pRARE2 质粒可补充大肠杆菌缺乏的 7 种稀有密码子(AUA, AGG, AGA, CUA, CCC, GGA 和 CGG)对应的 tRNA, 提高外源基因的表达水平。ArcticExpress (DE3) pRARE2 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] pRARE2 (Cam^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°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(平板中务必同时含有 34ug/ml 的氯霉素, 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. ArcticExpress (DE3) pRARE2 菌株携带 pRARE2 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、40ug/ml 的庆大霉素，以防质粒丢失。
8. ArcticExpress (DE3) pRARE2 感受态细胞具有四环素、庆大霉素、氯霉素抗性，不可用于具有四环素、庆大霉素、氯霉素抗性质粒的转化。