

Rosetta (DE3) Chemically Competent Cell

#CP03010 10×100ul

CP03020 20×100ul

贮存 -80°C

概述: Rosetta (DE3) 菌株是携带氯霉素抗性质粒 BL21 的衍生菌, 补充大肠杆菌缺乏的 6 种稀有密码子 (AUA, AGG, AGA, CUA, CCC, GGA) 对应的 tRNA, 提高外源基因, 尤其是真核基因在原核系统中的表达水平。本产品是采用进口菌株, 经特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于 DNA 的热击转化。使用 pUC19 质粒检测, 转化效率可达 10^7 cfu/ug。

基因型:

F-ompThsdSB(rB-mB-) gal dcm (DE3) pRARE2(CamR)

操作方法

- Rosetta (DE3) 感受态细胞从-80°C拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用枪轻轻吹打混匀, 冰中静置 25 分钟。
- 42°C水浴热激 90 秒, 迅速放回冰上并静置 5 分钟。
- 向离心管中加入 500μL 不含抗生素的无菌培养基 (SOC 或 LB 培养基), 混匀后 37°C, 200rpm 复苏 60 分钟。
- 3000rpm 瞬时离心收菌, 留取 100μL 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含所选质粒筛选抗生素的 LB 培养基上。
- 待平板正置培养 30min 后, 再将平板倒置放于 37°C培养箱过夜培养。

注意事项

- 感受态细胞最好在冰中缓慢融化, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。
- 混入质粒时应轻柔操作。
- 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
- 诱导时, IPTG 浓度可选(0.1-2mM 均可)。
- 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。