



Rosetta(DE3) Chemically Competent Cell

产品货号及规格:

Components/Cat.	YB1006-10	YB1006-20	YB1006-100
Rosetta(DE3)	100 μ l \times 10	100 μ l \times 20	100 μ l \times 100
pUC19(10 pg/ μ l)*	5 μ l	10 μ l	20 μ l

*. 对照质粒DNA,转化时可作阳性对照。

产品概述:

Rosetta(DE3)菌株补充了大肠杆菌缺乏的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, 菌株具有氯霉素抗性. 整合了 λ 噬菌体DE3区 (DE3区含有T7噬菌体RNA聚合酶), 同时表达T7 RNA聚合酶和大肠杆菌RNA聚合酶, 可用于pET系列, pGEX, pMAL等质粒的蛋白表达. 使用pUC19质粒DNA检测, 转化效率 $> 10^8$ cfu/ μ g。

基因型:

F: *ompT hsdS₁₈(r₁₈-m₁₈)-gal dcm*(DE3) pRARE(*argU, argW, ilex, glyT, leuW, proL*) (Cam^R)

产品应用: 提高外源基因, 尤其是真核基因在原核系统中的表达水平

产品储存:

-80°C保存六个月。

使用方法:

1. 取100 μ l冰浴上融化的感受态细胞, 加入目的DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置25分钟。
2. 42°C水浴中热激60秒, 然后快速将管转移到冰浴中2分钟, 该过程不要摇动离心管。
3. 向每个离心管中加入700 μ l无菌的SOC或LB培养基 (不含抗生素), 混匀后置于37°C, 220 rpm培养1小时, 使细菌复苏。
4. 1500 g 离心5分钟收菌, 留取 100 μ l 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的SOC或LB培养基上。
5. 将平板倒置放于 37°C培养箱过夜培养。

注意事项:

1. 刚刚化冻的细胞, 转化效率最高。
2. 避免反复冻融。
3. 避免用移液枪吹吸。
4. 整个操作过程要轻柔。
5. 转化后涂板, 平板不可加入氯霉素, 否则双抗生素条件下, 细菌生长十分缓慢。但诱导表达摇菌时, 应加入双抗, 防止氯霉素质粒丢失 (此时生长速度正常)。

