



Rosetta-gami 2(DE3) 表达感受态细胞 Rosetta-gami 2(DE3) Chemically Competent Cell

产品名称: Rosetta-gami 2(DE3)

保存条件: -80° C

产品规格:

Rosetta-gami 2(DE3) bio-109623	10x100 μL
pUC19 (control vector)	10pg/μL, 10 μL

基因型: Δ(ara-leu)7697 ΔlacX74 ΔphoA PvuII phoR araD139 ahpC galE galK rpsL (DE3) F' [lac+ lacIq pro] gor522::Tn10 trxB pLysSRARE2 (CamR, StrR, TetR)

简要说明: Rosetta-gami 2(DE3) 菌株集合了 Rosetta 2 和 Origami 2 两种菌株的优点: * pRARE2 赋予其 Rosetta2 菌株的优点——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。 --

* gor522::Tn10 trxB 赋予其 Origami2 菌株的优点——突变的硫氧还蛋白还原酶(thioredoxin reductase) (trxB) 和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase) (gor)基因, 它们是还原途径的两个关键酶, 其突变有利于高效形成正确折叠的含有二硫键的蛋白, 增强蛋白的可溶性; 同时该菌株不具有卡那霉素抗性, 可用于具有卡那霉素抗性质粒的蛋白表达。 --

* 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)适合 T7 启动子诱导的蛋白表达。

* --Rosetta-gamiB(DE3)菌株具有氯霉素, 链霉素, 四环素抗性, 由特殊工艺制作, 经 pUC19 质粒检测转化效率高达 10e8 cfu/μg DNA。

操作说明: 1. Rosetta gami 2(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, 加入目的质粒并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打), 冰中静置 25 分钟。

2. 42°C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰中并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。

3. 向离心管中加入 700 μl 不含抗生素的 LB 无菌培养液, 37°C, 200 rpm 复苏 60 分钟。

4. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 留取 50 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 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. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化, 插入冰中 8 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. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。

3. 诱导时, IPTG 浓度可选 (0.1-10 mM 均可)。

4. 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。