Rosetta 2(DE3)化学转化感受态使用说明

◇ 产品简介

本品为大肠杆菌 Rosetta 2(DE3) [基因型: $F^- ompT hsdSB(r_B^- m_B^-) gal dcm$ (DE3) pRARE2 (Cam^R)]制作的高效感受态。Rosetta 2(DE3)菌株来源于 BL21, 是 BL21 的衍生菌株, 为 Lon 蛋白酶和膜外蛋白酶 OMPT 的缺陷型菌株, 这两种酶的缺失有效防止异源蛋白在大肠杆菌体内的降解。将具有氯霉素抗性的 pRARE2 质粒导入 BL21 (DE3)细胞中即是 Rosetta 2(DE3), 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。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), 可同时表达 T7RNA 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。Rosetta 2(DE3)感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒(2686bp, Amp^R)检测转化效率 $>10^8$ cfu/ μ g DNA。

◇ 产品规格

品名	货号	规格
Rosetta 2(DE3)化学转化感受态	EE029-H-S	10 $\times$ 100 μ L
	EE029-H-M	50 $\times$ 100 μ L

-80 $^{\circ}$ C (12 个月)

◇ 转化方法

1. 从-80 $^{\circ}$ C 冰箱中取出感受态细胞, 放入冰中 5 min, 加入目的质粒 1-2 μ l, 轻弹使混合均匀, 并在冰中孵育 30min;
2. 放 42 $^{\circ}$ C 水浴锅中热激 90 s, 立即插入冰中静置 2-3 min;
3. 添加 900 μ L 900 μ L 睿必特™ E. coli 快速复苏液 (或是不含抗性的 LB 液体培养基), 37 $^{\circ}$ C 摇床 220 rpm 培养 60 min;
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 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 2YT 或 LB 平板上, 37 $^{\circ}$ C 培养箱放置过夜。

◇ 注意事项

1. 感受态细胞解冻后应立即使用, 不可在冰中放置过长时间。
2. 不能用移液器抽吸感受态细胞, 用手指轻弹混匀即可。
3. 诱导蛋白表达时, IPTG 浓度可选 (0.1-2 mM 均可)。