

## Rosetta（DE3）化学转化感受态使用说明

### ◇ 产品简介

本品为大肠杆菌 Rosetta(DE3) [基因型: F-*ompT hsdS<sub>B</sub>(r<sub>B</sub>m<sub>B</sub>) gal dcm*(DE3) pRARE(*argU, argW, ileX, glyT, leuW, proL*) (Cam<sup>R</sup>)]制作的高效感受态。该菌具有氯霉素抗性(Cam<sup>R</sup>); 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, 有利于真核基因的表达; 整合了λ噬菌体DE3区(该区域含有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、pGEX和pMAL等质粒的蛋白表达。pUC19质粒检测转化效率>10<sup>8</sup> cfu/μg DNA。

### ◇ 产品规格

品名	货号	规格
Rosetta（DE3）化学转化感受态	EE025-H-S	10×100 μL
	EE025-H-M	50×100 μL

-80℃（12个月）

### ◇ 转化方法

1. 从-80℃冰箱中取出感受态细胞, 放入冰中5 min, 加入目的质粒1-2ul, 轻弹使混合均匀, 并在冰中孵育30min;
2. 放42℃水浴锅中热激90 s, 立即插入冰中静置2-3 min;
3. 添加900 μL 900 μL 睿必特™ E. coli 快速复苏液 (或是不含抗性的LB液体培养基), 37℃摇床220 rpm培养60 min;
4. 5000 rpm离心一分钟收菌, 留取100 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平板上, 37℃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)。