

Rosetta-gami(DE3)pLysS 化学转化感受态使用说明

◇ 产品简介

本品为大肠杆菌 Rosetta-gami(DE3)pLysS {基因型: $\Delta(ara-leu)7697 \Delta lacX74 \Delta phoA P_{vull} phoR araD139 ahpC galE galK rpsL(DE3) F'$

[*lac⁺ lacI^q pro*] *gor522::Tn10 trxB::kan pLysSRARE (Cam^R, Str^R, Tet^R)* 制作的感受态。

Rosetta-gami(DE3)pLysS 菌株聚合了不同原核表达菌株的优势: * Rosetta-gami 赋予其 Rosetta 和 Origami 的优点——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, 提高外源基因的表达水平, 并且包含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。* 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。* 该菌株携带的 pLysS 质粒含有表达 T7 溶菌酶的基因, 能够降低目的基因的背景表达水平, 但不干扰 IPTG 诱导的表达, 适合表达毒性蛋白和非毒性蛋白。Rosetta-gami(DE3)pLysS 菌株具有卡那霉素, 氯霉素, 链霉素, 四环素抗性, 为亮氨酸生长缺陷型菌株。Rosetta-gami(DE3)pLysS 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 >10⁷ cfu/μg DNA。

◇ 产品规格

品名	货号	规格
Rosetta-gami(DE3)pLysS 化学转化感受态	EE028-H-S	10×100 μL
	EE028-H-M	50×100 μL

保存条件: -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)。