

SHuffle T7 E. coli 化学转化感受态使用说明

◇ 产品简介

本品为大肠杆菌 SHuffle T7 E. coli {基因型: F' *lac, pro, lacI^q* / Δ (*ara-leu*)7697 *araD13fhuA2 lacZ::T7 gene1* Δ (*phoA*)*PvuII phoR ahpC** *galE*(or U)

galK λ *att::pNEB3-r1-cDsbC* (Spec^R, *lacI^q*) Δ *trxB**rpsL150*(Str^R) Δ *gor* Δ (*malF*)³}制作的感受态。该菌株是 K12 的衍生菌株。该菌株的染色体中整合了一个拷贝的二硫键异构酶 DsbC 基因,可以促进含有二硫键蛋白的正确折叠;此外 DsbC 还是一个分子伴侣,可以帮助不含二硫键蛋白正确折叠,形成正确构象,同时该菌株可降低目的基因的本底表达,适合于毒性基因的原核表达。SHuffle T7 E. coli 菌株染色体中整合了一个拷贝的 T7 RNA 聚合酶基因,可以表达噬菌体 T7 RNA 聚合酶,适合于 T7 启动子诱导的蛋白表达;该菌株还可以表达大肠杆菌 RNA 聚合酶,所以可用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。SHuffle T7 E. coli 菌株具有抗 T1 噬菌体感染的特点,具有链霉素,壮观霉素抗性。SHuffle T7 E. coli 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 >10⁸ cfu/ μ g DNA。

◇ 产品规格

品名	货号	规格
SHuffle T7 E. coli 化学转化感受态	EE032-H-S	10×100 μ L
	EE032-H-M	50×100 μ L

-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 1-2 μ l,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 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℃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℃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)。