

Rosetta-gami 2(DE3)pLysS 化学转化感受态使用说明

产品规格

品名	货号	规格
Rosetta-gami 2(DE3)pLysS 化学转化感受态	EC042-H-S	10×100 μL
	EC042-H-M	50×100 μL

保存条件: -80°C (12 个月)

产品简介

Rosetta-gami 2(DE3)pLysS 菌株聚合了不同原核表达菌株的优点: Rosetta-gami 2 具有 Rosetta2 和 Origami 两个菌的优点——补充大肠杆菌缺乏的 7 种稀有密码子(AUA, AGG, AGA, CUA, CCC, GGA, CGG)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, 增加蛋白的可溶性。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, 能够降低目的基因背景的表达水平, 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 2(DE3)pLysS 菌株具有氯霉素, 链霉素, 四环素抗性, 为亮氨酸生长缺陷型菌株。Rosetta-gami 2(DE3)pLysS 感受态细胞由 pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率>10⁷ cfu/μg DNA。

基因型

Δ(ara-leu)7697 ΔlacX74 ΔphoA PvuII phoR araD139 ahpC galE galK rpsL(DE3)
F'[lac⁺ lacI^q pro] gor522::Tn10 trxB pLysSRARE2 (Cam^R, Str^R, Tet^R)

转化方法

1. 从-80°C冰箱中取出感受态细胞, 放入冰中5min, 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°C水浴锅中热激90 s, 立即插入冰中静置2-3 min;
3. 添加900ul 睿必特™ E.coli快速复苏液 (或不含抗性的 LB 液体培养基), 37°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)。