

ArcticExpress (DE3) pRARE2 化学转化感受态使用说明

产品规格

品名	货号	规格
ArcticExpress (DE3) pRARE2 化学转化感受态	EE002-H-S	10×100 μL
	EE002-H-M	50×100 μL

保存条件: -80℃ (12 个月)

产品简介

ArcticExpress (DE3) pRARE2 来源于 ArcticExpress (DE3), 将具有氯霉素抗性的 pRARE2 质粒导入 ArcticExpress (DE3) 细胞中即是 ArcticExpress (DE3) pRARE2。ArcticExpress (DE3) pRARE2 菌株染色体 DNA 中整合了 λ 噬菌体 DE3 区, 使得 ArcticExpress (DE3) pRARE2 菌株可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 广泛用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。ArcticExpress (DE3) pRARE2 菌株具有四环素, 庆大霉素, 氯霉素抗性, endA1 突变有利于质粒 DNA 的稳定。[cpn10cpn60 Gent^R] 的存在使 ArcticExpress (DE3) pRARE2 可以表达适应低温的伴侣蛋白 Cpn10 和 Cpn60 (来自嗜冷菌—*Oleispira antarctica*)。Cpn10 和 Cpn60 伴侣蛋白在 4-12℃ 表现出较高活性, 在 ArcticExpress (DE3) pRARE2 细胞中表达时, 可降低重组蛋白包涵体的形成, 增加可溶重组蛋白的表达量及生物活性, 比传统的原核表达伴侣蛋白 GroEL、GroES 等具有更加优异的促融能力。同时, 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。ArcticExpress (DE3) pRARE2 感受态细胞由 pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 >10⁸ cfu/μg DNA。

基因型

E. coli B F⁻ ompT hsdS(rB⁻ mB⁻) dcm⁺ Tet^R gal λ (DE3) endA Hte
[cpn10cpn60 Gent^R] pRARE2 (Gam^R)

转化方法

1. 从 -80℃ 冰箱中取出感受态细胞, 放入冰中 5min, 加入目的质粒 1-2μl, 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 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°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）。