

ArcticExpress(DE3)化学转化感受态使用说明

产品规格

品名	货号	规格
ArcticExpress 化学转化感受态	EE001-H-S	10×100 μL
	EE001-H-M	50×100 μL

保存条件: -80℃ (12 个月)

产品简介

ArcticExpress (DE3)来源于 E. coli B,此菌株为低温促可溶性表达菌株。是 Lon 和 OmpT 蛋白酶缺陷型菌株,可促进表达蛋白的稳定。ArcticExpress (DE3)菌株染色体 DNA 中整合了λ噬菌体 DE3 区,使得 ArcticExpress (DE3)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)菌株具有四环素,庆大霉素抗性, endA1 突变有利于质粒 DNA 的稳定。[cpn10cpn60 Gent^R] 的存在使 ArcticExpress (DE3)可以表达适应低温的伴侣蛋白 Cpn10 和 Cpn60。Cpn10 和 Cpn60 伴侣蛋白在 4-12℃表现出较高活性,在 ArcticExpress(DE3)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性能。ArcticExpress (DE3)感受态细胞由 pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率>10⁸cfu/μg DNA。

基因型

E. coli B F- ompT hsdS(rB- mB-) dcm+ Tet^R gal λ(DE3) endA Hte [cpn10cpn60 Gent^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1-2ul,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900ul 睿必特TM E.coli快速复苏液 (或不含抗性的 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 $^{\circ}$ 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)。