

Rosetta(DE3) Rosetta (DE3) 感受态细胞

目录号: CB108

储存条件: -70°C 冻存

产品内容:

产品组成	CB108-01	CB108-02
Rosetta(DE3)	5×100 μl	10×100 μl
Compcell Control Plasmid pUC19	10 μl	10 μl

保质期: 6个月, 生产日期见管盖。

Order: 010-59822688

Toll-free: 800-990-6057/400-810-6057

TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD.

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品简介

本公司生产的Rosetta(DE3)感受态细胞是采用大肠杆菌Rosetta(DE3)菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于DNA的化学转化。使用pUC19质粒(随产品配备, 浓度为0.1 ng/μl)检测, 转化效率可达 10^7 cfu/μg DNA, -70°C保存几个月转化效率不发生改变。

每支感受态可以酌情分装使用, 降低了实验的成本, 质量稳定, 使用方便。

Rosetta (DE3) 菌株介绍

基因型: F- *ompT hsdS_B (r_B⁻ m_B⁻) gal dcm* (DE3) *pRARE (argU, argW, ilex, glyT, leuW, proL) (Cam^r)*。

特点: 该菌株整合大肠杆菌缺乏的6种稀有密码子所对应的tRNA, 适合真核基因在原核系统中的表达。该菌株具有氯霉素抗性, 并适合于非毒性蛋白的表达。

操作步骤

(以下操作均按无菌条件的标准进行)

- 取感受态细胞置于冰浴中, 如需分装可将刚融化细胞悬液分装到无菌预冷的离心管中, 置于冰浴中。
注意: 一次转化感受态细胞的建议用量为50-100 μl, 可以根据实际情况分装使用。应注意所用DNA体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一。以下实验以100 μl感受态细胞为例。
- 向感受态细胞悬液中加入目的DNA (100 μl的感受态细胞能够被1 ng超螺旋质粒DNA所饱和), 轻弹混匀, 在冰浴中静置30 min。
- 将离心管置于42°C水浴中放置60-90 sec, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却2-3 min, 该过程不要摇动离心管。
注意: 此步骤也可将离心管置于室温进行, 时间不需十分准确, 夏季或室温较高时, 可放置5-8 min左右, 如果室温较低, 可延长至8-15 min左右。条件允许建议使用42°C热激方法。
- 向每个离心管中加入900 μl 无菌的SOC或LB培养基 (不含抗生素), 混匀后置于37°C摇床振荡培养45 min (150 rpm), 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。

- 将离心管内容物混匀, 吸取100 μl已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的SOB或LB固体琼脂培养基上, 用无菌的弯头玻棒轻轻的将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37°C培养12-16 h。
注意: 涂布用量可根据具体实验来调整。如转化的DNA总量较多, 可取更少量转化产物涂布平板; 反之, 如转化的DNA总量较少, 可取200-300 μl转化产物涂布平板。如果预计的克隆较少, 可通过离心 (4000 rpm, 2 min) 后吸除部分培养液, 悬浮菌体后将其涂布于一个平板中。(涂布剩余的菌液可置于4°C保存, 如果次日的转化菌落数过少可以将剩下的菌液再涂布新的培养板)

注意事项

- 感受态细胞应保存在-70°C, 不可冻融和放置时间过长, 以避免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时, 应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
- 为防止转化实验不成功, 可以保留部分连接反应液, 以重新转化, 将损失降到最低。