



Rosetta-gami(DE3)pLysS 感受态细胞

Rosetta-gami(DE3)pLysS Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1212

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1212-1	Rosetta-gami(DE3)pLysS 感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC1212-2	Rosetta-gami(DE3)pLysS 感受态细胞	20×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl) 5μl (质量控制用)。

储存: -70°C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 Rosetta-gami(DE3)pLysS 感受态细胞是采用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 质粒检测, 转化效率高达 10^6 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: $\Delta(\text{ara-leu})7697 \Delta\text{lacX74} \Delta\text{phoA PvuII phoR araD139 ahpC galE galK rpsL(DE3)}$
 $F'[\text{lac}^+ \text{lacI}^q \text{ pro}] \text{ gor522::Tn10 trxB::kan pLysSRARE2 (Cam}^R, \text{ Str}^R, \text{ Tet}^R)$

产品特点:

Rosetta-gami(DE3)pLysS 菌株聚合了不同原核表达菌株的优势:

1. Rosetta-gami 赋予其 Rosetta 和 Origami 的优点——补充大肠杆菌缺乏的 6 种稀有密码子 (AUA, AGG, AGA, CUA, CCC, GGA) 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, 增强蛋白的可溶性。
2. 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。
3. 该菌株携带的 pLysS 质粒含有表达 T7 溶菌酶的基因, 能够降低目的基因的背景表达水平, 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(DE3)pLysS 菌株具有卡那霉素, 氯霉素, 链霉素, 四环素抗性, 为亮氨酸生长缺陷型菌株。

操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:** 取感受态细胞置于冰浴中 (解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置 30 分钟。
注意: 所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:** 将离心管置于 42°C 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- **复苏:** 向每个离心管中加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37°C 180rpm 摇床振荡培养 45-60 分钟, 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
- **涂板:** 根据实验要求 (质粒, 重组连接产物转化), 吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 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 小时。



提示：

- 刚刚化冻的细胞，转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下，半小时内活性无明显变化，因此，同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70℃，请避免反复冻融，以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时，请在无菌条件下，根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸，整个过程要轻柔，尽量低温操作。
- 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。
- **由于此感受态细胞转化效率较低;为了更好的实验效果,建议至少转入 100ng 以上质粒,取 1/3 以上复苏后菌液涂板;否则有可能转化失败。**

ZOMANBIO