

Rosetta (DE3) 感受态细胞

目 录 号: CB108

储存条件: -70℃ 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(0.1 ng/μl)	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质粒检测，转化效率可达 10^7 cfu/ μ g 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，质优价廉。

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)

1. 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。
2. 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。
3. 将离心管置于42 $^{\circ}\text{C}$ 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，可延长时间至8-15 min左右。条件允许建议使用42 $^{\circ}\text{C}$ 热激方法。
4. 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 $^{\circ}\text{C}$ 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。

5. 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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

1. 感受态细胞应保存在-70 $^{\circ}\text{C}$ ，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。
2. 进行转化操作时，应根据相应温度及无菌条件的要求进行。
3. 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。