



Rosetta 2(DE3) 表达感受态细胞 Rosetta 2(DE3) Chemically Competent Cell

产品名称: Rosetta 2(DE3)

保存条件: -80° C

产品规格:

Rosetta 2(DE3) bio-109620	10x100 μ L
pUC19 (control vector)	10pg/ μ L, 10 μ L

基因型: F⁻ *ompT hsdS_B(r_B⁻ m_B⁻) gal dcm* (DE3) pRARE2 (Cam^R)

简要说明: Rosetta 2(DE3)菌株来源于 BL21, 是 BL21 的衍生菌株, 为 Lon 蛋白酶和膜外蛋白酶 OMPT 的缺陷型菌株, 这两种酶的缺失有效防止异源蛋白在大肠杆菌体内的降解。将具有氯霉素抗性的 pRARE2 质粒导入 BL21 (DE3)细胞中即是 Rosetta 2(DE3), 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。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), 可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 可用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。Rosetta 2(DE3)感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率达 108 cfu/ μ g DNA。

操作说明:

1. Rosetta 2(DE3)感受态细胞从-80°C拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的质粒并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打), 冰中静置 25 分钟。
2. 42°C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰中并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μ l 不含抗生素的 LB 无菌培养液, 37°C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 留取 50 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 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。

注意事项:

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化, 插入冰中 8 分钟内加入目标 DNA, 不可在冰中放置时间过长, 长时间存放会降低转化效率。
2. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
3. 诱导时, IPTG 浓度可选 (0.1-10 mM 均可)。
4. 为获得需要量的蛋白, 最佳诱导时间, 温度, IPTG 浓度需实验者优化。
5. Rosetta 2(DE3) 菌株携带 pRARE2 质粒, 除复苏培养基为无抗生素外, 其余所用培养基、培养液均应含有 34 μ g/ml 氯霉素, 以防质粒丢失。