

Rosetta 2(DE3)感受态细胞

Rosetta 2(DE3) Chemically Competent Cell

保存条件： -80℃

产品规格:

Rosetta 2 (DE3)	10×100 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℃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℃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℃，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℃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。