

# ER2566 感受态细胞

## ER2566 Chemically Competent Cell

保存条件： -80℃

### 产品规格:

ER2566	20×100μl
pUC19(control vector)	10pg/μl; 10μl

### 基因型

F<sup>-</sup> λ- *fhuA2*[*lon*] *ompT lacZ*::T7gene1 *gal sulA11Δ(mcrC-mrr)114::IS10R(mcr-73::miniTn10-TetS)2 R(zgb-210::Tn10)(TetS) endA1 [dcm]*

### 简要说明

ER2566 菌株是具有超高转化效率的蛋白表达原核菌株, 来源于 BL21。Lac 启动子启动下游 T7RNA 聚合酶的表达, 可用于 T7 启动子表达载体(如 pET 系列)的高水平蛋白表达。*fhuA2* 赋予 ER2566 菌株对噬菌体 T1 的抗性。同时 ER2566 为 *lon* 和 *ompT* 蛋白酶缺陷菌株。*Lon* 蛋白酶和膜外蛋白酶 OMPT 的缺失能够有效抑制表达的异源蛋白在大肠杆菌体内的降解,  $\Delta(mcrC-mrr)114$ , *mcr-73* 突变的存在使 ER2566 菌株无法对外源 DNA 进行标记、限制, 提高了外源甲基化 DNA 的转化效率。ER2566 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率达  $10^9$  cfu/ μg DNA。

### 操作说明

1. 取 100μl 冰上融化的 ER2566 感受态细胞, 加入目的质粒并轻轻混匀, 冰上静置 25 分钟。
2. 42℃ 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰上并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700μl 不含抗生素的无菌培养基(2YT 或 LB), 混匀后 37℃, 200rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000rpm 离心一分钟收菌, 留取 100μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 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上融化。
- 2.混入质粒时应轻柔操作。
- 3.转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
- 4.诱导时，IPTG 浓度可选(0.1-2mM 均可)。
- 5.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。