

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⁻ 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，Δ (*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 10⁹ cfu/ μ g 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。