



Origami2(DE3) Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC222)

Origami2(DE3):	100μl/支
pUC19 (control vector, 0.1ng/μl):	5μl
保存条件(保质期):	-80℃ (6 个月)

产品介绍

Origami2(DE3)菌株是 K-12 的衍生菌株, 含有突变的硫氧还蛋白还原酶(thioredoxin reductase) (trxB)和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase) (gor)基因, 它们是还原途径的两个关键酶, 其突变有利于含有二硫键蛋白的正确折叠, 增强蛋白的可溶性; 同时该菌株不具有卡那霉素抗性, 可用于具有卡那霉素抗性质粒的蛋白表达。Origami2(DE3)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), 该区整合于大肠杆菌的染色体上, 可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达, Origami2(DE3)菌株具有链霉素, 四环素抗性, 为亮氨酸生长缺陷型菌株。Origami2(DE3)感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率约 10^6 cfu/μg DNA。

基因型: $\Delta(ara-leu)7697 \Delta lacX74 \Delta phoA PvuII phoR araD139 ahpC galE galK rpsL F'$
[*lac+ lacIq pro*] (DE3) *gor522::Tn10 trxB* (Str^R, Tet^R)

操作方法

1. 取感受态细胞置于冰浴中 (解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置 25 分钟。
注意: 所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞体积的 1/10。
2. 将离心管置于 42℃ 水浴中放置 60 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2 分钟, 该过程不要摇动离心管。
3. 向每个离心管中加入 700μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37℃ 180rpm 摇床振荡培养 45-60 分钟, 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
4. 根据实验要求, 吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的 SOC 或 LB 固体琼脂培养基上, 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℃ 培养 12-16 小时。

注意事项

1. 感受态细胞需要在冰中缓慢融化, 插入冰中 10 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. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作, 避免用移液枪吹吸。
3. 转化高浓度的质粒时可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 感受态细胞应保存在 -80℃, 请避免反复冻融, 以免降低感受态细胞的转化效率。
5. 诱导时, IPTG 浓度可选 (0.1-2mM 均可)。
6. 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。
7. 由于此感受态细胞转化效率较低; 为了更好的实验效果, 建议至少转入 100ng 以上质粒, 取 1/3 以上复苏后菌液涂板; 否则有可能转化失败。