

Rosetta (DE3) 感受态细胞

目录号	规格
CD105-01	5×100 μl
CD105-02	10×100 μl

● 储存条件

-70℃保存；干冰运输。

● 产品简介

采用大肠杆菌ROSETTA (DE3) 菌株经特殊工艺制备得到的感受态细胞，用于DNA的化学转化。使用pUC19 质粒检测，转化效率可达10⁷，-70℃保存几个月转化效率不发生改变。

每支感受态细胞可以减半分装使用，降低了实验的成本。质量稳定，使用方便，质优价廉。

● Rosetta (DE3) 菌株介绍

基因型：
F- *ompT hsdS_B(r_B⁻ m_B⁻) gal dcm lacY1* (DE3) pRARE (*argU argW ileX glyT leuW proL*) (Cm^r)

✓ 转化效率为10⁷ cfu/ μg DNA以上。

✓ 携带氯霉素抗性质粒，该质粒能补充大肠杆菌缺乏的6种稀有密码子(AUA, AGG, AGA, CUA,CCC, GGA)对应的tRNA，提高外源基因(尤其是真核基因)在原核系统中的表达水平。

● 注意事项

- 1. 感受态细胞应保存在 -70℃，不可反复冻融，以免降转化效率。
- 2. 进行转化操作时，应保持无菌条件。

● 操作步骤

以下操作均按无菌条件的标准进行

1. 将感受态细胞置于室温融化，融化后立即置于冰水浴中。如需分装可将刚融化的感受态细胞分装到预冷的无菌离心管中，置于冰水浴中。

▲每次转化感受态细胞的建议用量为50-100 μl，可以根据实际情况分装使用；分装时应缓慢吸取感受态细胞，并且缓慢打入预冷的无菌离心管中。

▲ 待转化的DNA 体积不应超过感受态细胞体积的1/10。

«以下步骤»

- 以100 μl感受态细胞为例
2. 向融化的感受态细胞中加入待转化的DNA(100 μl感受态细胞能够被1 ng超螺旋质粒DNA 所饱和)，轻轻旋离心管以混匀内容物，在冰水浴中静置30 min。

3. 将离心管置于42℃水浴中放置60—90秒，立即将离心管转移到冰水浴中，静置2-3 min。
4. 加入900 μl 不含抗生素的无菌的SOC或LB培养基，固定在37℃摇床中，150 rpm振荡培养45 min。
5. 吸取100 μl 培养液加到含相应抗生素(包括氯霉素)的SOB 或LB 固体琼脂平板上，用无菌的弯头玻棒轻轻的将细胞均匀涂开。
- ▲可根据转化的DNA的量调整涂布的培养液的体积。
- ▲如果预计的克隆较少，可将培养液3,000×g离心5 min，吸除800 μl离心上清，悬浮菌体后涂布到平板。
6. 将平板置于室温直至液体被吸收，倒置平板，37℃培养12-16 h。