

Rosetta (DE3) 感受态细胞

目录号	规格
CD105-01	5×100 μ l
CD105-02	10×100 μ l

● 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。

地址：上海市闵行区虹梅南路 2588 号 B417 室

● 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/ μ g 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 μ l，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。
2. 向融化的感受态细胞中加入待转化的 DNA(100 μ l 感受态细胞能够被 1 ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和)，轻轻旋转离心管以混匀内容物，在冰水浴中静置 30 min。
▲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 $\times g$ 离心 5 min，吸除 800 μ l 离心上清，悬浮菌体后涂布到平板。
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 μ l 不含抗生素的无菌的 SOC 或 LB 培养基，固定在 37℃ 摆床中，150 rpm 振荡培养 45 min。
5. 吸取 100 μ l 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。
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。

电话：021-54291710, 15121175363