天净沙系列

CAT#:26-045

干冰运输、-80℃保存

天净沙

大肠杆菌 Rosetta-gami 2(DE3)感受态细胞

E. coli Rosetta-gami 2(DE3) Chemically Competent Cells

使用手册 V0.8

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是大肠杆菌 Rosetta-gami 2(DE3)化学感受态细胞，Rosetta-gami 2(DE3)菌株集合了 Rosetta2 和 Origami2 两种菌株的优点：pRARE2 赋予其 Rosetta2 菌株的优点——补充大肠杆菌缺乏的 7 种稀有密码子（AUA，AGG，AGA，CUA，CCC，GGA 和 CGG）对应的 tRNA，提高外源基因的表达水平；*gor522::Tn10 trxB* 赋予其 Origami2 菌株的优点——突变的硫氧还蛋白还原酶和谷胱甘肽还原酶基因，它们是还原途径的两个关键酶，其突变有利于高效形成正确折叠的含有二硫键的蛋白，增强蛋白的可溶性。该菌株染色体整合了λ噬菌体 DE3 区（DE3 区含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶）适合 T7 启动子诱导的蛋白表达。

该菌株的基因型为：*D(ara-leu)7697 DlacX74 DphoA PvuII phoR araD139 ahpC galE galK rpsL (DE3) F' [lac+ lacIq pro] gor522::Tn10 trxB pRARE2 (Cam^R, Str^R, Tet^R)*

本产品具有以下特点：

1. 该菌株具有氯霉素，链霉素，四环素抗性，由特殊工艺制作。
2. 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。
3. pUC19 质粒（2686 bp，Amp^R）检测转化效率>1E7 cfu/μg DNA
4. 本产品足够 10 次 100 μL 的转化实验。
5. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品采用 logo 热封袋包装

成分	编号	规格	包装
大肠杆菌 Rosetta-gami 2(DE3)化学感受态细胞	26-045a	100 μL×10	1.5 mL 本色管
pUC19（10 pg/μL）	26-045b	10 μL	1.5 mL 本色管
使用手册	26-045sc	1 份	无

运输及保存

干冰运输，-80℃保存，有效期为 6 个月

自备物品

质粒，EP 管，0.9% NaCl。

使用方法

1. Rosetta-gami 2(DE3)感受态细胞从-80℃拿出，迅速插入冰中，5 分钟后待菌块融化，加入目的质粒，并用手拨打 EP 管底轻轻混匀（避免用枪吸打），冰中静置 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 700 μL 不含抗生素的无菌培养基（2YT 或 LB），混匀后 37℃，200×g 复苏 60 分钟。
4. 5000×g 离心一分钟收菌，留取 100 μL 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中缓慢融化，插入冰中 8 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. 混入质粒时应轻柔操作，转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。 3. 诱导时，IPTG 浓度可选（0.1-2 mM 均可）。 4. 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。 5. Rosetta-gami2(DE3)菌株携带 pRARE2 质粒，除复苏培养基为无抗生素外，其余所用培养基、培养液均应含有 34 μg/mL 氯霉素，以防质粒丢失。 6. 具有氯霉素、链霉素、四环素抗性，不能用于具有氯霉素、链霉素、四环素抗性质粒的表达。
关联产品	大肠杆菌 Rosetta-gami 2(DE3)菌种