

克  
必  
隆  
系  
列

CAT#:121004-10  
干冰运输、-80℃保存

**TIANDZ**

大肠杆菌 Rosetta(DE3)化学感受态细胞

*E.coli* Rosetta(DE3) Chemical Competent Cell

使用手册 V1.1

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>本产品是采用大肠杆菌 Rosetta (DE3) 菌株经特殊工艺处理得到的感受态细胞，可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测本产品，转化效率可达 <math>10^7</math>。本感受态细胞适用于真核蛋白表达，具有氯霉素抗性。</p> <p>菌株基因型为：<math>F^- ompT hsdSB(r_B^- m_B^-) gal dcm lacY1</math> (DE3) pRARE (<i>argU</i>, <i>argW</i>, <i>ileX</i>, <i>glyT</i>, <i>leuW</i>, <i>proL</i>) (<math>Cm^R</math>)</p>				
<p><b>规格及成分</b></p>		<p>成分</p>	<p>编号</p>	<p>包装</p>	
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>干冰运输、<math>-80^{\circ}C</math> 保存，有效期半年。</p>				
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>目的 DNA、SOC 或 LB 培养基等</p>				
<p><b>使用方法</b></p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>取感受态细胞置于冰浴中。一次转化感受态细胞的建议用量为 50-100<math>\mu</math>L，可以根据实际情况分装使用。</li> </ol> <p><b>以下实验以 50 <math>\mu</math>L 感受态细胞为例。</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>待感受态细胞融化后，向感受态细胞悬液中加入目的 DNA（根据实际情况加入适量的 DNA，通常 100 <math>\mu</math>L 感受态细胞能够被 1 ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和），用移液器轻轻吹打混匀，冰浴 30 分钟。</li> <li><math>42^{\circ}C</math> 热击 45 秒，迅速将离心管转移到冰浴中，冰上静置 2-3 分钟。</li> <li>每个离心管中加入 450 <math>\mu</math>L 无菌的 SOC 或 LB 培养基（不含抗生素），混匀后置于 <math>37^{\circ}C</math> 摇床，150 rpm 振荡培养 45 分钟使菌体复苏。</li> <li>根据实验需求，取适量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，用无菌的涂布棒将细胞均匀涂开，将平板置于 <math>37^{\circ}C</math> 直至液体被吸收，倒置培养，<math>37^{\circ}C</math> 培养 12-16 小时。</li> </ol> <p><b>注意：</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>涂布用量可根据具体实验调整。若转化的 DNA 总量较多，可取少量转化产物涂布平板；若转化的 DNA 总量较少，可取 200-300 <math>\mu</math>L 转化产物涂布平板。若预计的克隆数较少，可通过离心（4,000 rpm，2 分钟）后吸除部分培养液，悬浮菌体后将其涂布于平板中。</li> <li>新制备的固体培养基不易涂干，可将平板正置于 <math>37^{\circ}C</math> 直至液体被吸收后再倒置培养。</li> <li>涂布剩余的菌液可置于 <math>4^{\circ}C</math> 保存，如果次日的转化菌落数过少，可以将剩下的菌液再涂布新培养基进行培养。</li> </ol>				
<p><b>关联产品</b></p>	<p>Rosetta (DE3) <i>plysS</i> 感受态细胞 (CAT#:130558)</p>				

