



# ArcticExpress(DE3) pRARE2 感受态细胞

## ArcticExpress(DE3) pRARE2 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1235

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1235-1	ArcticExpress(DE3) pRARE2 感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC1235-2	ArcticExpress(DE3) pRARE2 感受态细胞	20×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl) 5μl (质量控制用)。

储存: -70°C 保存六个月。

### 产品介绍:

本公司生产的 ArcticExpress(DE3) pRARE2 感受态细胞是采用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, 转化效率高达  $10^7$  cfu/μg DNA 以上。

基因型为: E. coli B F<sup>-</sup> ompT hsdS(r<sub>B</sub><sup>-</sup> m<sub>B</sub><sup>-</sup>) dcm<sup>+</sup> Tet<sup>R</sup> gal λ(DE3) endA Hte [cpn10cpn60 Gent<sup>R</sup>] pRARE2 (Cam<sup>R</sup>)

### 产品特点:

ArcticExpress (DE3) pRARE2 来源于 ArcticExpress (DE3), 将具有氯霉素抗性的 pRARE2 质粒导入 ArcticExpress (DE3) 细胞中即是 ArcticExpress (DE3) pRARE2。ArcticExpress (DE3) pRARE2 菌株染色体 DNA 中整合了 λ 噬菌体 DE3 区, 使得 ArcticExpress (DE3) pRARE2 菌株可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 广泛用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。ArcticExpress (DE3) pRARE2 菌株具有四环素, 庆大霉素, 氯霉素抗性, endA1 突变有利于质粒 DNA 的稳定。[cpn10cpn60 GentR] 的存在使 ArcticExpress (DE3) pRARE2 可以表达适应低温的伴侣蛋白 Cpn10 和 Cpn60 (来自嗜冷菌—Oleispira antarctica)。Cpn10 和 Cpn60 伴侣蛋白在 4-12°C 表现出较高活性, 在 ArcticExpress(DE3) pRARE2 细胞中表达时, 可降低重组蛋白包涵体的形成, 增加可溶重组蛋白的表达量及生物活性, 比传统的原核表达伴侣蛋白 GroEL、GroES 等具有更加优异的促融能力。同时, pRARE2 质粒可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。

### 操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:**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 30 分钟。  
注意:所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:**将离心管置于 42°C 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- **复苏:**向每个离心管中加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37°C 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。
- **涂板:**根据实验要求 (质粒, 重组连接产物转化), 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°C 培养 12-16 小时。



### 提示：

- 刚刚化冻的细胞，转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下，半小时内活性无明显变化，因此，同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在  $-70^{\circ}\text{C}$ ，请避免反复冻融，以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时，请在无菌条件下，根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸，整个过程要轻柔，尽量低温操作。
- 为防止转化实验不成功，可以保留部分连接反应液，以重新转化，将损失降到最低。
- ArcticExpress (DE3) pRARE2 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  $34\ \mu\text{g/ml}$  氯霉素、 $40\ \mu\text{g/ml}$  的庆大霉素，以防质粒丢失。
- 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。
- ArcticExpress (DE3) pRARE2 感受态细胞具有四环素、庆大霉素、氯霉素抗性，不可用于具有四环素、庆大霉素、氯霉素抗性质粒的转化。

### Sample Induction Protocol (for reference only)

1. Inoculate a single colony from a freshly streaked plate into 3ml of LB medium containing the appropriate antibiotic for the plasmid and host strain.

2. Incubate with shaking at 200rpm at  $37^{\circ}\text{C}$  overnight.

3. Inoculate 50ml of LB medium containing the appropriate antibiotic with 0.5ml of the overnight culture prepared in step 2 (use the 500ml triangular flask as the container would be better).

4. Incubate with shaking at 150rpm at  $37^{\circ}\text{C}$  until the  $\text{OD}_{600}$  reaches 0.5-0.8. (0.6 recommended; about 2.5h).

5. (Optional) Pipet 1ml of the cultures into clean microcentrifuge tubes and place the tubes on ice until needed for gel analysis or storage at  $-20^{\circ}\text{C}$ . These will serve as the non-induced control samples.

6. Add IPTG to a final concentration of 1mM. Optimal time for induction of the target protein may vary from 2-16hours, depending on the protein.

7. Incubate with shaking at 120rpm at  $37^{\circ}\text{C}$  for 2-4hours. To determine the optimal time for induction of the target protein, it is recommended that a time course experiment be performed varying the induction from 2-16hours.

8. Place the culture on ice for 10minutes. Harvest cells by centrifugation at  $5,000\times g$  for 10minutes at  $4^{\circ}\text{C}$ .

9. Remove the supernatant and store the cell pellet at  $-20^{\circ}\text{C}$  (storage at lower temperatures is also acceptable).

### IPTG 配制：

Prepare a 1M solution of IPTG (Isopropyl- $\beta$ -D-thiogalactoside; Isopropyl- $\beta$ -D-thiogalactopyranoside) by dissolving 2.38g of IPTG in dd water and adjust the final volume to 10ml. Filter sterilize before use.