



Origami (DE3) 感受态细胞

Origami(DE3) Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1249

目录编号	产品名称	包装单位
■ ZC1249	Origami (DE3) 感受态细胞	10×100μl

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 Origami (DE3) 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 10^6 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: $\Delta(\text{ara-leu})7697 \Delta\text{lacX74} \Delta\text{phoA PvuII phoR araD139 ahpC galE galK rpsL}^f [\text{lac}^q \text{lacI}^q \text{pro}] (\text{DE3})\text{gor522}::\text{Tn10 trxB} (\text{Kan}^R, \text{Str}^R, \text{Tet}^R)$

产品特点:

Origami 系列菌株是由 K-12 菌株衍生而来, 在 thioredoxin reductase (trxB) 和 glutathione reductase (gor) 基因上同时含有突变, 这使得该菌株能够更加高效的在细胞质内生成二硫键, 有助于含二硫键蛋白的活性蛋白形成。研究表明使用 Origami 系列的感受态细胞表达获得的活性二硫键蛋白比其他同类感受态细胞要多 10 倍左右。

Origami 系列感受态细胞能够用于氨苄抗性质粒的蛋白表达, 尤其是和 pET32a 载体能够完美搭配使用。pET32a 载体含有 thioredoxin (TRX) 融合标签, 能够高效提升胞质内蛋白二硫键的形成。

TrxB 和 Gor 基因突变使得质粒能够分别具有卡那和四环素抗性, 所以本菌株无法用于卡那和四环素抗性质粒的蛋白表达。为了减少细胞内多种分子间的二硫键的形成, 含有 TrxB 和 Gor 基因突变的宿主菌被建议用于含二硫键正确折叠蛋白的高效表达。

DE3 是溶源性的 λ DE3, 所以在 lacUV5 启动子下携带有 T7 RNA 聚合酶的染色体拷贝。该菌株适用于 pET 系列载体, 及其他 T7 启动子系列载体。

亮氨酸缺陷型菌株。

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℃，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。
- **由于此感受态细胞转化效率较低；为了更好的实验效果，建议至少转入 100ng 以上质粒，取 1/3 以上复苏后菌液涂板；否则有可能转化失败。**

ZOMANBIO