



AD494(DE3) 感受态细胞

AD494(DE3) Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1236

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1236-1	AD494(DE3) 感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC1236-2	AD494(DE3) 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 AD494(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 10^7 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: Δ (ara-leu)7967, Δ lacX74, Δ phoAPvuII, phoR, Δ malF3,F' [lac+(lacIq)pro] trxB::Kan(DE3)

产品特点:

AD494 菌株含有 thioredoxin reductase (TrxB) 基因突变, 有利于细菌胞内的二硫键形成, 能够帮助蛋白形成正确的三维折叠, 形成有功能活力的蛋白。

AD494 菌株来源于 K12 菌, 有助于蛋白的形成正确的三维结构。

AD494 菌株中的 thioredoxin reductase (TrxB) 突变具有卡那霉素抗性, 因此该宿主菌只能用于氨苄或者其他非卡那霉素抗性的质粒, 进行基因蛋白表达。

DE3 是溶源性的 λ DE3, 所以带有 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。能够利用 IPTG 直接进行蛋白的诱导表达。

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。



ZOMANBIO

本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

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。

ZOMANBIO