



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。

W3110(DE3) 感受态细胞

W3110(DE3) Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1255

版本号: 2022-07-17

目录编号	产品名称	包装单位
☐ ZC1255	W3110(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℃ 保存六个月。

产品介绍:

W3110(DE3) 是 K-12 的衍生菌株, 是一种经过较少改造, 比较接近于“WT-野生型”的大肠杆菌工程菌株, 基因组与 MG1655 菌株高度相似(与 MG1655 基因组相比, 有 8 个位点的基因突变)。W3110(DE3) 菌株在液体培养时可耐受更高的菌体浓度, 同时蛋白产量明显高于其他原核表达菌株, 可作为蛋白表达的宿主菌株使用, 提高菌体和蛋白产量。W3110(DE3) 菌株染色体整合 DE3 区 (DE3 区含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶), 该区整合于大肠杆菌的染色体上, 可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达, W3110(DE3) 菌株不含核酸酶 endA1 突变, 体内核酸酶含量较高, 提取质粒时务必使用质粒提取试剂盒中去蛋白液尽量去除核酸酶, 以防提取的质粒被降解。W3110(DE3) 感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率 $>1 \times 10^6$ cfu/μg DNA。

基因型为: F-λ- rph-1 INV(rrnD, rrnE)(DE3)

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℃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℃ 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℃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。