

ArcticExpress (DE3) pRARE2 感受态细胞

ArcticExpress (DE3) pRARE2 Chemically Competent Cell 说明书

产品货号: ML-G2023

保存条件: -80℃

产品规格: 10×100μl 50×100μl

产品介绍

基 因 型

E.coli B F⁻ ompT hsdS(rB⁻ mB⁻) dcm⁺ TetR gal^λ (DE3) endA Hte
[cpn10cpn60 GentR] pRARE2 (CamR)

简 要 说 明

MLBio 的 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℃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。MLBio 生产的 ArcticExpress (DE3) pRARE2 感受态细胞经特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率达 108cfu/ μ g DNA。

操 作 说 明

1. ArcticExpress (DE3) pRARE2 感受态细胞从-80℃拿出，迅速插入冰中，5 分钟后待菌块融化，加入目的质粒，并用手拨打 EP 管底混匀，冰中静置 25 分钟。

2. 42℃水浴热激 45 秒，迅速放回冰上并静置 2 分钟，晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700μl 不含抗生素的无菌培养基(2YT 或 LB)，混匀后 37℃，200rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌，留取 100 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 LB 培养基上（（平板中务必同时含有 34ug/ml 的氯霉素，40ug/ml 的庆大霉素和转化质粒本身的筛选抗生素；若质粒浓度较高，也可稀释后涂板，务必保证能在平板上挑到单克隆菌落））。
5. 将平板倒置放于 37℃培养箱过夜培养。

注 意 事 项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化，插入冰中 8 分钟内加入目标 DNA，不可在冰中放置时间过长，长时间存放会降低转化效率。
2. 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 μg/ml 氯霉素、40ug/ml 的庆大霉素，以防质粒丢失。
3. 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。
4. 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。

