



Origami2 (DE3) pLysS 感受态细胞

Origami2 (DE3) pLysS Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1223

目录编号	产品名称	包装单位
☐ ZC1223-1	Origami2 (DE3) pLysS 感受态细胞	100 μ l $\times$ 10
☐ ZC1223-2	Origami2 (DE3) pLysS 感受态细胞	100 μ l $\times$ 20

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

储存: -70 $^{\circ}$ C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 Origami2 (DE3) pLysS 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/ μ g DNA 以上。

基因型为: Δ (ara-leu)7697 Δ lacX74 Δ phoA PvuII phoR araD139 ahpC galE galK rpsL F' [lac⁺ lacIq pro] (DE3) gor522::Tn10 trxB pLysS (Cam^R, Str^R, Tet^R)

产品特点:

Origami 2 host strains are K-12 derivatives that have mutations in both the thioredoxin reductase (trxB) and glutathione reductase (gor) genes, which greatly enhance disulfide bond formation in the E. coli cytoplasm. The Origami 2 strains are kanamycin sensitive; like the original Origami strains, the gor mutation is still selected for by tetracycline. To reduce the possibility of disulfide bond formation between molecules, strains containing mutations in trxB and gor are recommended only for the expression of proteins that require disulfide bond formation for proper folding.

DE3 indicates that the host is a lysogen of λ DE3, and therefore carries a chromosomal copy of the T7 RNA polymerase gene under control of the lacUV5 promoter. Such strains are suitable for production of protein from target genes cloned in pET vectors by induction with IPTG.

pLysS strains express T7 lysozyme, which further suppresses basal expression of T7 RNA polymerase prior to induction, thus stabilizing pET recombinants encoding target proteins that affect cell growth and viability.

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。



ZOMANBIO

Order: 010-62617225
Technical: 010-62979301
Email: zomanbio@126.com

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。

- **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。
- 诱导时, IPTG 浓度可选 (0.1-10mM 均可)。
- 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。

ZOMANBIO