

M5 HiPer Origami B (DE3)感受态细胞, 提供胞内蛋白二硫键形成的最优环境 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer Origami B (DE3)感受态细胞	100 μ l \times 20 支	MFS02037-20

【储存条件】 -80 $^{\circ}$ C 恒温保存, 有效期六个月; 干冰运输。

【产品简介】

Origami B(DE3)感受态细胞基因组包含突变失活的硫氧还蛋白还原酶(thioredoxin reductase)(trxB)和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase)(gor)基因,有利于在胞内形成正确折叠的含有二硫键蛋白,增强含二硫键蛋白的功能表达。该菌株染色体整合了 λ 噬菌体 DE3 区(DE3 区含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶),可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶,可用于 pET 系列,pGEX,pMAL 等质粒的蛋白表达,具有卡那霉素和四环素抗性,不能用于具有卡那霉素和四环素抗性的质粒。OrigamiB(DE3)感受态细胞由特殊工艺制作,经 pUC19 质粒检测转化效率达 106cfu/ μ g。

【产品性能】

菌株类型: E.coli

培养基: LB 培养基

生长条件: 37 $^{\circ}$ C, 有氧

保存液: 0.1M CaCl₂+10%甘油

【使用方法】

按照无菌操作规程进行下列操作步骤:

1. 取感受态细胞置于冰浴中融化,待完全化冻后轻轻混匀。如需分装,可将融化的细胞悬液转移到无菌、预冷的离心管中,置于冰浴中备用。混匀、分装时动作应轻缓,以防细胞破裂。
2. 向 50~100 μ l 细胞悬液中加入目的 DNA,轻轻混匀,冰浴中放置 30 分钟。
注意:加入 DNA 的体积以不超过感受态细胞体积的十分之一为宜。
3. 将离心管转移至 42 $^{\circ}$ C 水浴中热激 60~90 秒,然后快速将离心管转移到冰浴中冷却 2 分钟。该过程不要摇动离心管。
4. 向离心管中加入 500~900 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基(不含抗生素),混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 200 rpm 左右振荡培养 45~60 分钟,使菌体复苏并表达质粒上的抗生素抗性基因。
5. 根据实验要求,取适量转化后的菌液加到含相应抗生素的 LB 固体琼脂培养基上,将细胞均匀涂开。待液体被完全吸收后,37 $^{\circ}$ C 倒置培养约 16 小时。
注意:涂布量的选择应根据目的 DNA 的性质和浓度适当进行调整,通常可按下述方法涂布:
 - a. 目的质粒 DNA 在 1 ng 左右时, ϕ 90 mm 平皿可涂布 100 μ l, ϕ 55 mm 平皿可涂布 50 μ l;目的质粒浓度较高时,应相应减少涂布量。
 - b. 连接产物的转化菌液可通过 4,000 rpm 离心 1~2 分钟后,吸除大部分上清,用剩余的 100~200 μ l 上清重悬菌体,涂布于同一块琼脂平板上。

【注意事项】

1. 融化后的感受态细胞应及时进行转化,以免降低转化效率;融化后不宜再次冻结保存。
2. 整个操作过程要轻柔,避免移液枪吹吸。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时,本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。