

M5 Rosetta (DE3) Competent Cell 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Rosetta (DE3) Competent Cell	100 μ l \times 10 支	MF040-R-10
M5 Rosetta (DE3) Competent Cell	100 μ l \times 20 支	MF040-R-20

【储存条件】

-80 $^{\circ}$ C 恒温保存，避免反复冻融，有效期六个月；干冰运输。

【产品简介】

本产品是采用 Rosetta 菌株，经特殊工艺处理得到的感受态细胞，可用于 DNA 的热击转化。Rosetta 菌株是携带氯霉素抗性质粒 BL21 的衍生菌，补充大肠杆菌缺乏的 6 种稀有密码子 (AUA, AGG, AGA, CUA, CCC, GGA) 对应的 tRNA，提高外源基因，尤其是真核基因在原核系统中的表达水平。使用 pUC19 质粒检测，转化效率可达 10^7 。

【产品组份】

M5 Rosetta (DE3) Competent Cell, pUC19 (0.1 ng/ μ l)。

【使用方法】

1. 取感受态细胞置于冰浴中。一次转化感受态细胞的建议用量为 50-100 μ l，可以根据实际情况分装使用。以下实验以 50 μ l 感受态细胞为例。
2. 待感受态细胞融化后，向感受态细胞悬液中加入目的 DNA (根据实际情况加入适量的 DNA，通常 100 μ l 感受态细胞能够被 1 ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和)，用移液器轻轻吹打混匀，冰浴 30 分钟。
3. 42 $^{\circ}$ C 热击 45 秒，迅速将离心管转移到冰浴中，冰上静置 2-3 分钟。
4. 向每个离心管中加入 450 μ l 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素)，混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 摇床，150 rpm 振荡培养 45 分钟使菌体复苏。
5. 根据实验需求，取适量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，用无菌的涂布棒将细胞均匀涂开，将平板置于 37 $^{\circ}$ C 直至液体被吸收，倒置培养，37 $^{\circ}$ C 培养 12-16 小时。

注意：1) 涂布用量可根据具体实验调整。若转化的 DNA 总量较多，可取少量转化产物涂布平板；若转化的 DNA 总量较少，可取 200-300 μ l 转化产物涂布平板。若预计的克隆数较少，可通过离心 (4,000rpm, 2 分钟) 后吸除部分培养液，悬浮菌体后将其涂布于平板中。

2) 新制备的固体培养基不易涂干，可将平板正置于 37 $^{\circ}$ C 直至液体被吸收后再倒置培养。

3) 涂布剩余的菌液可置于 4 $^{\circ}$ C 保存，如果次日的转化菌落数过少，可以将剩下的菌液再涂布新培养基进行培养。

【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；融化后再次-80 $^{\circ}$ C 冻存的感受态细胞，其转化效率通常降至 10^5 cfu/ μ g DNA 以下，仍可进行环形质粒的转化。
2. 整个操作过程要轻柔，避免移液枪吹吸。
3. 请使用传热性能好的薄壁试管或离心管，换用不同的试管或离心管时，应摸索热激时间，以获得最佳转化效率。

【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。