



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-1683301或800-8283301
订货e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

Rosetta(DE3)超级感受态细胞

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|---------------------|----------|
| D1065S | Rosetta(DE3)超级感受态细胞 | 10×100μl |
| D1065M | Rosetta(DE3)超级感受态细胞 | 50×100μl |

产品简介:

- 碧云天生产的Rosetta(DE3)超级感受态细胞, 英文名Rosetta(DE3) Super Competent Cells, 是一种兼容真核生物6种稀有密码子进而实现重组真核蛋白表达的*E. coli*. Rosetta(DE3)即用型化学感受态细胞。使用pUC19质粒进行热激活转化, 转化效率可以高达 1×10^8 cfu/μg DNA以上。
- BL21是一种缺失内源性蛋白酶的大肠杆菌B菌株, 它能有效避免重组表达蛋白的降解, 广泛用于重组蛋白的表达。BL21(DE3)是被λ噬菌体DE3溶原化所得BL21衍生菌株。噬菌体DE3中的T7 RNA聚合酶受到lacUV5启动子控制。外源添加IPTG可以诱导BL21(DE3)菌株中T7 RNA聚合酶的快速表达。T7 RNA聚合酶进而识别表达质粒载体上的T7启动子, 从而驱动重组蛋白的高效表达。因此BL21(DE3)菌株适合T7启动子驱动重组蛋白诱导表达系统, 比如常见的原核表达载体pET系列[1]。
- Rosetta是在大肠杆菌BL21(DE3)基础上携带额外质粒所得衍生菌株。该质粒含有一个氯霉素抗性基因且可转录产生识别6种大肠杆菌的稀有密码子(AUA, AGG, AGA, CUA, CCC, GGA)的tRNA(这些tRNA是由它们天然的启动子驱动转录的), 因此Rosetta能够大大提高带有真核基因特异的稀有密码子的真核基因在大肠杆菌中的表达水平。
- Rosetta(DE3)菌株的基因型为F⁻ *ompT hsdS_B(T_B, M_B) gal dcm(DE3) pRARE(argU, argW, ilex, glyT, leuW, proL) (Cam^R)*。

包装清单:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|---------------------|----------|
| D1065S | Rosetta(DE3)超级感受态细胞 | 10×100μl |
| D1065M | Rosetta(DE3)超级感受态细胞 | 50×100μl |
| — | 说明书 | 1份 |

保存条件:

-80°C保存, 一年内有效。避免反复冻融, 通常制备6个月后转化效率随保存时间延长而逐渐降低。

注意事项:

- 感受态细胞禁止反复冻融, 并应尽可能避免冻融, 反复冻融会导致转化效率大幅下降。
- 感受态细胞融化后, 须尽快加入待转化样品, 不宜在无转化产物的情况下放置时间超过10分钟或以上时间, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 待转化样品的体积通常不宜超过感受态细胞体积的10%, 样品体积过大会导致转化效率下降。
- 感受态细胞对于温度变化非常敏感, 需要避免出现不应有的使用说明之外的温度变化。
- 感受态细胞对于机械力非常敏感。加入待转化样品时应轻柔操作, 不能使用移液枪吹打混匀。
- 通常仅建议取部分样品用于转化, 这样万一遇到转化失败的情况, 还留有样品可以再次进行转化。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. **解冻感受态细胞。**取感受态细胞放置冰浴或冰水浴中融化, 通常需要5分钟以上的时间。解冻后须尽量在10分钟内使用, 放置时间过长会影响转化效率。
2. **DNA样品的转化。**取一管感受态细胞, 加入DNA样品, 例如质粒、连接产物或重组产物等, 轻轻弹击管底约2-3次或轻轻晃动约2-3次以混匀, 立即**冰浴静置30分钟**。**注:**所用DNA体积通常不宜超过感受态细胞体积的10%, 混合时不得使用移液器进行吹打。如果用于质粒的转化扩增, 冰浴静置约10分钟, 后续可以直接涂板并培养过夜; 如果用于连接产物或重组产物的转化, 建议冰浴静置30分钟并严格执行后续的热激处理和复苏培养等步骤, 以提高转化效率。
3. **热激处理。**将冰浴放置的离心管快速置于**42°C水浴中, 静置热激45秒**。随后立即转移至**冰水浴中静置2分钟**以快速冷却至接近零度。热激及转移至冰浴过程中切勿晃动离心管。
4. **复苏培养。**加入900μl不含抗生素的LB培养基, 颠倒数次混匀, **37°C摇床约150rpm复苏培养1小时**。如果用于质粒的转化扩增, 复苏培养10-20分钟也完全足够了; 如果用于连接产物或重组产物的转化, 建议严格进行复苏培养操作。
5. **收菌涂板。**约5000×g室温离心1分钟, 沉淀细菌, 吸除约900-950μl上清, 余下约50-100μl上清。用移液器轻轻吹打并重悬菌

体，随后涂布到含相应抗生素的LB平板上。注：如果用于质粒的转化扩增，可以仅取少量进行涂板；如果用于连接产物或重组产物的转化，建议取所有重悬的菌液涂板。

6. 将平板倒置放于37°C培养箱培养过夜。

参考文献：

1. Martínez-Martínez I, Kaiser C, Rohde A, Ellert A, García-Carmona F, et al. *Biotechnol Prog.* 2007. 23(3):645-51.

相关产品：

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|--|--------------|
| D0301 | 一步法感受态细菌制备试剂盒 | 200次 |
| D0302 | 超级感受态细菌制备试剂盒 | 100次 |
| D0303 | 农杆菌感受态制备试剂盒 | 100次 |
| D0391 | 细菌冻存液 | 50ml |
| ST156 | BeyoPure™ LB Broth (premixed powder) | 10瓶共5升 |
| ST158 | BeyoPure™ LB Broth with Agar (premixed powder) | 10瓶共5升 |
| ST800 | Tryptone/胰蛋白胨 | 500g |
| ST802 | BeyoPure™ Tryptone/BeyoPure™胰蛋白胨 | 500g |
| ST968 | Yeast extract/酵母膏 | 500g |
| ST969 | BeyoPure™ Yeast Extract/BeyoPure™酵母膏 | 500g |
| ST004D | Agar (琼脂粉) | 100g |
| ST004E | Agar | 500g |
| ST007 | Ampicillin | 5g |
| ST008 | Ampicillin (100mg/ml,1000X) | 5ml |
| ST101 | Kanamycin | 1g |
| ST102 | Kanamycin (10mg/ml,1000X) | 5ml |
| D1001S/M | ArcticExpress(DE3)超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1003S/M | ArcticExpress (DE3) pRARE2超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1005S/M | BJ5183超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1007S/M | BJ5183-AD-1超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1009S/M | BL21超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1011S/M | BL21(AI)超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1013S/M | BL21(DE3)超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1015S/M | BL21(DE3) PLysS超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1017S/M | BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1019S/M | BL21 Star(DE3)超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1021S/M | BL21 Star (DE3)pLysS超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1023S/M | C43(DE3)PLysS超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1025S/M | DB3.1超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1027S/M | DH10B超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1029S/M | DH10Bac超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1033S/M | DH5α λpir超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1035S/M | EPI300超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1037S/M | EPI400超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1039S/M | ER2566超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1041S/M | GT115超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1043S/M | HB101超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1045S/M | HT115(DE3)超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1047S/M | JM109超级感受态细胞 | 20/100×100μl |
| D1049S/M | JM109(DE3)超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1051S/M | JM110超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1053S/M | Mach1-T1超级感受态细胞 | 20/100×100μl |

| | | |
|----------|-------------------------------|--------------|
| D1055S/M | MG1655超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1057S/M | Origami2(DE3)超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1059S/M | OrigamiB(DE3)超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1061S/M | OrigamiB(DE3)pLyss超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1063S/M | OverExpress C43(DE3)超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1065S/M | Rosetta(DE3)超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1067S/M | Rosetta2(DE3)超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1069S/M | Rosetta-gami 2(DE3)超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1071S/M | Rosetta-gami B(DE3)超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1073S/M | Rosetta-gami(DE3)pLysS超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1075S/M | S17-1λpir超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1077S/M | Stable超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1079S/M | Stbl2超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1081S/M | Stbl3超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1083S/M | SURE超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1085S/M | TG1超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1087S/M | TOP10超级感受态细胞 | 20/100×100μl |
| D1089S/M | TOP10F` 超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1091S/M | Tuner(DE3)超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1093S/M | Turbo超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1095S/M | XL10-Gold超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1097S/M | XL1-Blue超级感受态细胞 | 10/50×100μl |
| D1099S/M | XL2-Blue超级感受态细胞 | 10/50×100μl |

Version 2022.11.17