

OverExpressC43(DE3)感受态细胞

货号: C1140

规格: 10×100μL

保存: -70℃保存, 6个月, 避免反复冻融。不适合在液氮中保存。

产品简介:

OverExpressC43(DE3)菌株适用于毒性蛋白的表达, 来源于 OverExpressC41(DE3)菌株。OverExpress C41(DE3)是通过毒性蛋白在 BL21(DE3)内过表达筛选实验得到的基因突变菌株, 该菌株的基因突变降低了 T7 RNA 聚合酶的酶活性, 下调毒性蛋白的表达量使细胞存活。OverExpress C43(DE3)菌株是通过另一个毒性蛋白对 OverExpress C41(DE3)菌株再次进行毒性耐受性实验获得的, OverExpress C43(DE3)菌株比 OverExpress C41(DE3)更加耐受毒性蛋白。OverExpress C43(DE3)菌株也可以表达常规蛋白, 相同条件下, 蛋白表达量略低于 BL21(DE3)菌株。OverExpressC43(DE3)菌株属于 B 菌株, lon 和 ompT 蛋白酶缺陷型。OverExpress C43(DE3) 感受态细胞由特殊工艺制成, pUC19 质粒检测转化效率可达 1×10^7 cfu/μg DNA。

基因型: *F⁻ompT hsdSB (rB⁻mB⁻) gal dcm (DE3)*

菌株抗性: 对氨苄青霉素, 卡那霉素, 氯霉素和四环素敏感。

操作方法: (以下操作均按无菌条件的标准进行)

(以氨苄青霉素抗性的 pET 质粒为例)

1. 将感受态细胞置于冰水浴中化冻。待细胞刚化冻后, 加入 1-5μl 含有 1-100ng 的质粒 DNA 到细胞中, 用手指拨打管底, 轻轻混匀。
2. 冰水浴中放置 30 分钟, 不要晃动。
3. 42℃热击 60 秒钟, 不要晃动。
4. 冰水浴中放置 2 分钟, 不要晃动。
5. 加入 500μL 的室温的 SOC 或 LB 培养基。
6. 置于 37℃摇床中, 150-200rpm, 复苏培养 60 分钟。
7. 取 50-100μL 菌液涂布在含有氨苄青霉素抗性的 LB 平板上。待液体吸干后, 倒置平板 37℃培养 12-24 小时。

(平板划线分离法: 复苏培养结束后, 12000rpm 离心 30 秒钟, 弃掉上清, 留 100μL 左右的液体, 用 200μL 吸头轻轻吹打散菌块, 取 10μL 重悬的菌液分多点滴在平板上, 倾斜吸头, 用吸头头部的侧面将滴在平板上的液体来回划线。这个方法可以获得更多更大的单克隆菌落。)

注意事项:

- 1、感受态细胞应保存在-70℃, 不可反复冻融, 否则其转化效率将会降低。
- 2、实验过程中应严格无菌操作, 防止其它 DNA 或杂菌的污染, 避免为以后的筛选、鉴定带来影响。

3、转化时，转化效率与外源 DNA 的浓度在一定范围内成正比，但当加入的外源 DNA 量过多或体积过大反而会降低转化效率。转化时 DNA 体积要小于感受态细胞体积的十分之一。

4、转化率的计算：转化率 = 产生菌落的总数 / 铺板 DNA 总量。

5、为防止转化实验不成功，可以保留部分连接产物，以重新转化，将损失降到最低。

相关产品：

I1020 IPTG 溶液 (50mg/ml)

A1170 氨苄青霉素储存液(100mg/ml)

K1030 Kanamycin (100mg/ml) 卡那霉素

L1015 LB 固体培养基(干粉)

L1020 SOC 液体培养基(干粉)

X1010 X-gal(20mg/ml)