



Rosetta(DE3) Competent Cell

Rosetta(DE3)感受态细胞

目录号： CW0811S (10 tubes)

保存条件： -80℃

产品内容

Component	CW0811S
	10 tubes
Rosetta(DE3) Competent Cell	10×100 μl
Control DNA pUC19 , 0.1 ng/μl	10 μl

产品简介

本产品是采用进口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 。

注意事项

1. 感受态细胞一定要用干冰运输。感受态细胞应在-80℃下保存，不可反复冻融和放置时间过长，以免降低感受态细胞的转化效率。
2. 转化所有步骤均在无菌条件下操作。
3. 包装中有0.1 ng/μl的pUC19DNA，供对照试验使用。

操作步骤

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 μl，可以根据实际情况分装使用。以下实验以50 μl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 μl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℃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 μl无菌的SOC或LB培养基（不含抗生素），混匀后置于37℃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℃直至液体被吸收，倒置培养，37℃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 μl转化产物涂布平板。若预计的克隆数较少，可通过离心（4,000 rpm，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℃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℃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。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途