



Rosetta (DE3) Chemically Competent Cell 使用说明书

产品编号: CC555 (原货号 CC512)

产品组成:

Rosetta(DE3) Competent Cell	100 μL/支
pUC19 (control vector, 10 pg/μl)	10 μL
保存条件 (保质期):	-80°C (6 个月)

基因型: F-ompT hsdS_B(r_B⁻m_B⁻) gal dcm(DE3) pRARE(argU, argW, ilex, glyT, leuW, proL) (Cam^R)

产品说明:

Rosetta(DE3)菌株具有氯霉素抗性, 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, 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), 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。Rosetta(DE3)感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率>10⁷ cfu/μg DNA。

操作方法:

1. 感受态细胞从-80°C拿出, 迅速插入冰中, 5 min 后待菌块融化, 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打), 冰中静置 25 min。
2. 42°C水浴热激 45 s, 迅速放回冰上并静置 2 min, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μL 不含抗生素的无菌培养基(2×YT 或 LB), 混匀后 37°C, 200 rpm 复苏 60 min。
4. 5000 rpm 离心 1 min 收菌, 留取 100 μL 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2×YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37°C培养箱过夜培养。



注意事项:

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化，插入冰中 8 min 内加入目标 DNA，不可在冰中放置时间过长，长时间存放会降低转化效率。
2. 混入质粒或连接产物时应轻柔操作，转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
3. Rosetta(DE3)菌株携带 pRARE 质粒，除复苏培养基为无抗生素外，其余所用培养基、培养液均应含有 34 $\mu\text{g/mL}$ 氯霉素，以防质粒丢失。
4. 具有氯霉素抗性，不能用于具有氯霉素抗性质粒的表达。

20240416 版