

W3110(DE3) 化学转化感受态使用说明

✧ 产品简介

本品为大肠杆菌 W3110(DE3){基因型: F- λ -*rph-1* INV(*rrnD*, *rrnE*)(DE3)(Cam^R) }制作的感受态。该菌种是 K-12 的衍生菌株, 是一种经过较少改造, 比较接近于“WT-野生型”的大肠杆菌工程菌株, 基因组与 MG1655 菌株高度相似(与 MG1655 基因组相比, 有 8 个位点的基因突变)。W3110(DE3) 菌株在液体培养时可耐受更高的菌体浓度, 同时蛋白产量明显高于其他原核表达菌株, 可作为蛋白表达的宿主菌株使用, 提高菌体和蛋白产量。W3110(DE3) 菌株染色体整合 DE3 区(DE3 区含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶), 该区整合于大肠杆菌的染色体上, 可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达, W3110(DE3) 菌株具有氯霉素抗性, 不含核酸酶 *endA1* 突变, 体内核酸酶含量较高, 提取质粒时务必使用质粒提取试剂盒中去蛋白液尽量去除核酸酶, 以防提取的质粒被降解。W3110(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 $>1 \times 10^7$ cfu/ μ g DNA。

✧ 产品规格

品名	货号	规格
W3110(DE3)化学转化感受态	EE038-H-S	10 \times 100 μ L
	EE038-H-M	50 \times 100 μ L

-80 $^{\circ}$ C (12 个月)

✧ 转化方法

1. 从-80 $^{\circ}$ C 冰箱中取出感受态细胞, 放入冰中 5 min, 加入目的质粒 1-2 μ l, 轻弹使混合均匀, 并在冰中孵育 30min;
2. 放 42 $^{\circ}$ C 水浴锅中热激 90 s, 立即插入冰中静置 2-3 min;
3. 添加 900 μ L 900 μ L 睿必特™ E. coli 快速复苏液 (或是不含抗性的 LB 液体培养基), 37 $^{\circ}$ C 摇床 220 rpm 培养 60 min;
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 留取 100 μ l 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 平板上, 37 $^{\circ}$ C 培养箱放置过夜。

✧ 注意事项

1. 感受态细胞解冻后应立即使用, 不可在冰中放置过长时间。
2. 不能用移液器抽吸感受态细胞, 用手指轻弹混匀即可。
3. 诱导蛋白表达时, IPTG 浓度可选 (0.1-2 mM 均可)。