

## OverExpress C43(DE3)电击感受态细胞

### OverExpress C43(DE3) Electroporation-Competent Cell

#### 说明书

产品货号: ML-G27024

保存条件: -80℃

产品规格: 10×100μl 50×100μl

#### 产品介绍

基 因 型

F - ompT hsdSB (rB- mB-) gal dcm (DE3)

简 要 说 明

OverExpress C43(DE3)、OverExpress C41(DE3)两个菌株均起源于 BL21(DE3)，其优点是可以高效表达毒性蛋白或疏水性蛋白。OverExpress C41(DE3)跟 BL21(DE3)的区别在于其基因组含有至少一个未知突变，这个未知突变使其获得了高效表达毒性蛋白 (1-5)的能力，此突变位点参与大肠杆菌表达毒性蛋白时的细胞死亡途径；OverExpress C43(DE3)来源于 OverExpress C41(DE3)，是通过筛选 OverExpress C41(DE3)对另一个不同毒性蛋白的抗性菌株获得。OverExpress C43(DE3)菌株具有比 OverExpress C41(DE3)更强的表达毒性蛋白和疏水性蛋白的能力，所以说 OverExpress C43(DE3) 菌株与 BL21(DE3)相比拥有至少两个未知突变，正是这两个未知突变使其获得了更广泛的表达毒性蛋白或疏水性蛋白的能力。此菌株含有 DE3 区，可同时表达 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。OverExpress C43(DE3)感受态细胞由特殊工艺制作，pUC19 质粒检测转化效率可达  $5 \times 10^8$  cfu/  $\mu$ g DNA。

## 操 作 说 明

1. 0.1 cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5 分钟，待其沥干水分，正置 5 分钟，待乙醇挥发干净立即插入冰中，压实冰面，电极杯顶离冰面 0.5 cm 以方便盖上杯盖，冰中静置 5 分钟充分降温。
2. 取-80℃保存的 OverExpress C43(DE3)感受态细胞插入冰中 5 分钟，待其融化，加入目的 DNA (质粒或连接产物)并用手拨打 EP 管底轻轻混匀，避免产生气泡，立即插入冰中。

A. 测定转化效率使用 1  $\mu$ l 10 pg/  $\mu$ l 的对照质粒 pUC19;

B. 对于连接产物，大部分公司的 T4 连接酶反应体系或 50 度反应重组体系可与 DB3.1 电击感受态混合后电击转化，无需进行 DNA 纯化，但 DNA 浓度不能过高，DNA 浓度不超过 100 ng/μl，体积不超过 5 μl/50 μl 感受态。

C. 对盐浓度较高的 DNA 溶液或反应体系请用乙醇沉淀 DNA 后加入适量 TE 缓冲液 (10 mM Tris HCl, pH7.5; 1 mM EDTA)重悬，然后与 DB3.1 电击感受态混合进行电击转化。

3.用 200 μl 枪头(用刀切除 0.5cm 枪尖)将感受态-DNA 混合物快速移到电击杯中，避免产生气泡，盖上杯盖。

4.启动电转仪，设置参数：C=25 μF，PC=200 Ω，V=1.8 kV（此为 BioRad 电转仪推荐参数，也可按所用电转仪推荐的参数操作），将电击杯快速放入电转槽中，电击完成快速插入冰中。

5.2 分钟后从冰中取出电击杯，放室温，加入 700 μl 不含抗生素的无菌 S.O.C. 培养基（室温），用 1ml 枪吹吸电击杯底部数次混匀后，转移到 50 ml 离心管（BD Falcon 50 ml 锥形离心管等），向离心管中补加 S.O.C. 培养基至 10 ml。37℃，225 rpm 复苏 60 分钟。

6.5000 rpm 离心一分钟收菌，重悬后取 100-200 μl 涂布到含相应抗生素的 S.O.C 平板上（因菌量较大，若全部涂板请选用直径 15cm 培养皿 2-5 个）。将平板倒置放于 37℃培养箱过夜培养 13-17 小时。

### 注 意 事 项

1. 加入 DNA 时体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 电击感受态细胞加入电击杯应避免产生气泡，气泡会增加弧光放电风险。

3. 当 DNA 不纯或存在盐，乙醇，蛋白及缓冲液等污染时，转化效率急剧下降。
4. 电击杯里的离子可增加溶液的电导，增大在含有细胞和 DNA 的溶液中产生电流和弧光放电的风险。
5. 若转化大质粒或想获得较高转化效率，推荐使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒。质粒增大一倍，转化效率下降一个数量级。
6. 对于连接产物转化，部分公司的连接体系或重组体系 (例如：Thermo, NEB 公司的 T4 连接酶系统, NEB, 天根的 50 度反应重组系统) 可以直接与 DB3.1 电击感受态混合后电击转化，无需纯化，但 DNA 浓度不能过高，最好不超过 100 ng/ $\mu$ l。过高浓度连接产物或过大体积连接产物会降低转化效率，增加弧光放电的风险。
7. 混入质粒时应轻柔操作，吸取感受态细胞时避免用力过猛，以免剪切力过大损伤细胞膜，降低转化效率。转化高浓度的质粒或连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
8. 电击感受态细胞最好保存在  $-80^{\circ}\text{C}$  以下，高于  $-80^{\circ}\text{C}$  超期储存会导致转化效率会下降。