



HT115(DE3) 感受态细胞

HT115(DE3) Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1233

目录编号	产品名称	包装单位
☐ ZC1233-1	HT115(DE3) 感受态细胞	10×100μl
☐ ZC1233-2	HT115(DE3) 感受态细胞	20×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl) 5μl (质量控制用)。

储存: -70°C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 HT115(DE3) 感受态细胞是采用特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测, 转化效率高达 10^6 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: F⁻ mcrA mcrB, IN(rrnD-rrnE)1 rnc14::Tn10(DE3 lacUV5::T7 polymerase)

产品特点:

HT115(DE3) 菌株是一类特殊的 RNase III 缺陷型大肠杆菌菌株, 可以饲喂线虫, 主要用于秀丽隐杆线虫 (*C. elegans*) 的 RNAi 干扰试验。该菌株可以在 LB 或 2YT 培养基中正常生长, Tn10 转座子的存在使其具有四环素抗性。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, 在 IPTG 存在时可诱导 T7 RNA 聚合酶大量表达, 进而启动线虫 ds RNA 的表达), 可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 除了用于线虫 RNAi 干扰试验, 也可用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。

操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:**取感受态细胞置于冰浴中(解冻 1-2 分钟), 加入目的 DNA, 轻轻混匀, 在冰浴中放置 30 分钟。
注意:所使用 DNA 体积不要超过感受态细胞悬液体积的 1/10, 100μl 感受态细胞能够被 1ng 超螺旋质粒 DNA 所饱和。
- **热激:**将离心管置于 42°C 水浴中放置 60-90 秒, 然后快速将管转移到冰浴中, 使细胞冷却 2-3 分钟, 该过程不要摇动离心管。
- **复苏:**向每个离心管中加入 500μl 无菌的 SOC 或 LB 培养基 (不含抗生素), 混匀后置于 37°C 180rpm 摇床振荡培养 45-60 分钟, 目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达, 使菌体复苏。
- **涂板:**根据实验要求 (质粒, 重组连接产物转化), 吸取适量体积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, 将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收, 倒置平板, 37°C 培养 12-16 小时。

提示：

- 刚刚化冻的细胞，转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下，半小时内活性无明显变化，因此，同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70℃，请避免反复冻融，以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时，请在无菌条件下，根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸，整个过程要轻柔，尽量低温操作。
- 为防止转化实验不成功，可以保留部分连接反应液，以重新转化，将损失降到最低。
- 诱导时，IPTG 浓度可选 (0.1-2mM 均可)。
- 为获得需要量的蛋白，最佳诱导时间，温度，IPTG 浓度需实验者优化。
- **由于此感受态细胞转化效率较低；为了更好的实验效果，建议至少转入 100ng 以上质粒，取 1/3 以上复苏后菌液涂板；否则有可能转化失败。**

Sample Induction Protocol (for reference only)

1. Inoculate a single colony from a freshly streaked plate into 3ml of LB medium containing the appropriate antibiotic for the plasmid and host strain.
2. Incubate with shaking at 200rpm at 37°C overnight.
3. Inoculate 50ml of LB medium containing the appropriate antibiotic with 0.5ml of the overnight culture prepared in step 2(use the 500ml triangular flask as the container would be better).
4. Incubate with shaking at 150rpm at 37°C until the OD 600 reaches 0.5-0.8. (0.6 recommended; about 2.5h).
5. (Optional)Pipet 1ml of the cultures into clean microcentrifuge tubes and place the tubes on ice until needed for gel analysis or storage at -20°C . These will serve as the non-induced control samples.
6. Add IPTG to a final concentration of 1mM. Optimal time for induction of the target protein may vary from 2-16hours, depending on the protein.
7. Incubate with shaking at 120rpm at 37°C for 2-4 hours. To determine the optimal time for induction of the target protein, it is recommended that a time course experiment be performed varying the induction from 2-16 hours.
8. Place the culture on ice for 10minutes. Harvest cells by centrifugation at 5,000×g for 10minutes at 4°C .
9. Remove the supernatant and store the cell pellet at -20°C (storage at lower temperatures is also acceptable).

IPTG 配制：

Prepare a 1M solution of IPTG (Isopropyl-β-D-thiogalactoside; Isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside) by dissolving 2.38g of IPTG in dd water and adjust the final volume to 10ml. Filter sterilize before use.