

over Express C43 (DE3) 感受态说明书

产品规格 (PG1102)

over Express C43 (DE3) :	100 μ l \times 10 支
保存条件(保质期):	-80 $^{\circ}$ C (12 个月)

产品说明

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 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 $>5 \times 10^8$ cfu/ μ g DNA。

操作方法

1. over Express C43 (DE3) 感受态细胞从-80℃拿出，迅速插入冰中，5min 后待菌块融化，加入目的 DNA 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打)，冰中静置 30min;
2. 42℃ 水浴热激 45-90s，迅速放回冰中并静置 5min，晃动会降低转化效率;
3. 向离心管中加入 800 μ l 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB)，混匀后 37℃，200 rpm 复苏 60min;
4. 6000 rpm 离心 5min 收菌，留取 100 μ l 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含 34 μ g/ml 氯霉素及所选质粒筛选抗生素的 2YT 或 LB 培养基上;
5. 将平板倒置放于 37℃ 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 8min 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. 混入质粒时应轻柔操作。
3. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 诱导时，IPTG 浓度可选 (0.1-2mM 均可)。
5. 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。