



ER2566 感受态细胞

ER2566 Competent cell

●产品概述

ER2566 菌株是具有超高转化效率的蛋白表达原核菌株, 来源于 BL21。Lac 启动子启动下游 T7 RNA 聚合酶的表达, 可用于 T7 启动子表达载体 (如 pET 系列) 的高水平蛋白表达。同时 *fhuA2* 赋予 ER2566 菌株对噬菌体 T1 的抗性。同时 ER2566 为 *lon* 和 *ompT* 蛋白酶缺陷菌株。*Lon* 蛋白酶和膜外蛋白酶 *OMP*T 的缺失能够有效减少表达的异源蛋白的降解; $\Delta(mcrC-mrr)114$, *mcr-73* 突变的存在使 ER2566 菌株无法对外源 DNA 进行标记、限制, 提高了外源甲基化 DNA 的转化效率。ER2566 感受态细胞由特殊化学试剂制作, pUC19 质粒检测转化效率达 10^8 cfu/ μ g DNA。

基因型: F- λ -*fhuA2* [*lon*] *ompT* lac Z::T7 gene 1 gal sul A11 $\Delta(mcrC-mrr)114::IS10$ R (*mcr-73::miniTn10-TetS*)2 R(*zgb-210::Tn10*)(Tet S) end A1 [*dcm*]

●产品特点

- Lac 启动子启动下游 T7RNA 聚合酶的表达, 可用于 T7 启动子表达载体 (如 pET 系列) 的高水平蛋白表达
- 抗噬菌体 T1 (*fhuA2* 赋予)
- *lon* 和 *ompT* 蛋白酶缺陷菌株, 能够有效防止表达的异源目的蛋白在细菌体内的降解
- $\Delta(mcrC-mrr)114$, *mcr-73* 突变的存在使 ER2566 菌株无法对外源 DNA 进行标记、限制, 提高了外源甲基化 DNA 的转化效率
- 转化效率高: pUC19 质粒检测, 转化效率可达 10^8 cfu/ μ g DNA

●质量控制分析

转化效率: 按照提供的方案, 将 0.1ngpUC19 质粒 DNA 用于转化一管 100ul 的 ER2566 感受态细胞。经过 60min 复苏后, 涂布于 2YT-氨苄青霉素平板上, 于 37℃ 过夜孵育。经计算形成 $2-4 \times 10^8$ 个菌落/ μ g。还测试了未转化的细胞对噬菌体 f80 的抗性, 对噬菌体 T1 的抗性的标准测试, 以及对氨苄青霉素、氯霉素, 卡那霉素, 壮观霉素, 链霉素和四环素的敏感性。



●使用方法 (无菌操作)

高效转化方案:

- 1、将ER2566感受态细胞从-80℃拿出, 迅速插入冰中, 5分钟使菌块融化。
- 2、加入目的DNA (质粒或连接产物), 注意目的DNA的体积不要超过感受态细胞悬液体积的十分之一, 并用手拨EP管底轻轻混匀(避免用枪吸打), 冰中静置30分钟。
- 3、42℃水浴热激60秒, 迅速放回冰上并静置5分钟, 注意不要晃动离心管, 晃动会降低转化效率。
- 4、向离心管中加入900μl不含抗生素的无菌培养基(2YT或LB), 混匀后37℃, 200rpm复苏60min。
- 5、5000rpm离心一分钟收菌, 留取100μl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培养基上。
- 6、将平板倒置放于37℃培养箱过夜培养。

涂布用量可以根据具体实验来调整, 如转化的DNA总量较多, 可取100ul或者更少转产物涂板; 反之, 如转化DNA总量较少, 可取200-300ul的转化产物涂板。如需挑取单菌落, 可对转化产物进行梯度稀释后进行涂板。

五分钟转化方案:

方案的简化仅产生高效转化方案约10%的转化效率, 可适用于对于转化体总数减少可接受的应用。

遵循高效转化方案, 并进行以下更改:

- 1、高效步骤2和3中的冰浴时间减少到2min。
- 2、完全省略氨苄青霉素抗性质粒的生长 (步骤4) 或适当减少其他选择性培养的生长时间。

●注意事项:

- 1、感受态细胞应该在-80℃下保存, 避免反复冻融和长时间保存, 以免降低感受态细胞的转化效率。
- 2、为了转化效率的最大化, 细胞和DNA分子在冰上的孵育时间应在30min。每缩短10min, 转化效率将会降低2倍。

●包装规格及保存条件:

制品内容	货号	规格	保存条件
ER2566 感受态细胞	58.017	100μl*6	-80℃
Control DNA Puc19, 0.1ng/μl		10μl	-80℃