



HT115(DE3) 感受态细胞

基因型:

F- mcrA mcrB, IN(rrnD-rrnE)1 rnc14::Tn10(DE3 lavUV5::T7 polymerase)

简要说明:

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 T7RNA 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。

HT115(DE3)感受态细胞由特殊工艺制作, pUC19 质粒检测转化效率达 0.5×10^8 cfu/ μ g DNA。

操作说明:

1. HT115(DE3)感受态细胞从 -80°C 拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的质粒并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打), 冰中静置 25 分钟。

2. 42°C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰中并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。

3. 向离心管中加入 700 μ l 不含抗生素的 LB 无菌培养液, 37°C , 200 rpm 复苏 60 分钟。

4. 5000 rpm 离心一分钟收菌, 留取 50 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 LB 培养基上。

5. 将平板倒置放于 37°C 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 8 分钟内加入目标 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. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。

3. 诱导时, IPTG 浓度可根据实验选择使用 (0.1-10mM)。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

4. 进行线虫 RNAi 质粒转化时, 抗生素使用浓度可参考: 氨苄—50ug/ml, 四环素—12.5ug/ml。

5. 若进行蛋白表达, 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。

