

LMG194 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: EC3120)

LMG194 Competent Cell	100μl /支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件:	-80°C

● 基因型

F- *ΔlacX74 gal E thi rpsL ΔphoA (Pvu II) Δara714 leu::Tn10*

● 产品说明

LMG194 为阿拉伯糖诱导蛋白表达专用菌株, 此菌株的阿拉伯糖操纵子被破坏, 可用于阿拉伯糖诱导的原核表达, 多用于 pBAD/His A, B, and C, pBAD/Myc-His A, B, and C 等质粒的原核表达。LMG194 的碱性磷酸酶基因 *phoA* 缺失, 不影响蛋白表达核心功能, 仅作为背景改造; *Δara714* 阿拉伯糖代谢基因簇缺失, 无法利用阿拉伯糖, 避免阿拉伯糖代谢对诱导型启动子 (如 pBAD) 的干扰。LMG194 有链霉素(*rpsL*)和四环素(Tn10)抗性, 不能用于链霉素或四环素抗性质粒的转化; LMG194 菌株表达蛋白时诱导之前的蛋白本底表达水平更低, 适合毒性蛋白和非毒性蛋白的表达, 表达毒性蛋白的效果优于 TOP10(*araBADC* -)菌株。LMG194 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, AmpR) 检测转化效率 $>1 \times 10^8$ cfu/μg DNA。

● 操作方法

1. LMG194 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 DNA (质粒或连接产物) 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, 迅速放回冰上并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μl 不含抗生素的无菌培养基 (SOC 或 LB), 混匀后 37°C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体, 留取 100 μl 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。
5. 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。