

RTS SHuffle T7 E. coli 表达感受态细胞说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

储存

RTS 系列感受态为干粉形式，均可室温保存 3 天，长期保存 -20°C （2 年）。经 Nano E. coli Transfection Reagent 溶解后的感受态必须分装后，并于 -60°C 以下保存。溶解后的感受态细胞避免反复冻融，在 -60°C 以下可保存 6 个月。

使用方法

1. 从 -20°C 冰箱中取出 Nano E. coli Transfection Reagent 彻底融化，放置于冰上。
注意：该试剂含长链带电化合物，允许反复冻融 20 次，使用完毕后继续 -20°C 保存。
2. 取 $50\ \mu\text{l}$ Nano E. coli Transfection Reagent 置于 $0.2\ \text{ml}$ EP 管中，加入 $10\sim 100\ \text{ng}$ 质粒 DNA（不可使用连接产物），枪头吹打混合均匀，冰上放置 2min。
注意：放置时间不要超过 30min，过长时间会导致核酸聚合，从而影响转化效率。
3. 将上述混合物($50\ \mu\text{l}$ Nano E. coli Transfection Reagent 和质粒 DNA)加入到一支 RTS 表达感受态细胞干粉中，枪头轻轻吹打，彻底溶解细胞干粉，置于冰上 15min。
注意：使用 RTS 表达感受态细胞干粉前，轻甩干粉至管底部，如果发现干粉已经溶解则不可使用。
4. 置于 42°C 热激 1min 后，迅速置于冰上急冷 2min。
5. 将热激完毕的感受态细胞转移到含有 $450\ \mu\text{l}$ 不含抗生素的 SOC（或 LB）培养基， 37°C 振荡（225 rpm）培养 60min。使质粒上抗性标记基因表达，菌体复苏。
6. 取 $200\ \mu\text{l}$ 复苏菌液涂布到含相应抗生素的 LB 琼脂平板表面。
7. 将平板置于 37°C 培养， $12\sim 18$ 小时后可出现菌落。
8. 获得的表达菌，可使用 IPTG 进行诱导表达，从而获得重组蛋白。