



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

BL21 Star (DE3)pLysS 甘油菌(低本底蛋白高诱导表达用)

产品编号	产品名称	包装
R32156	BL21 Star (DE3)pLysS 甘油菌(低本底蛋白高诱导表达用)	200μl

产品简介:

源叶生产的 BL21 Star (DE3)pLysS 甘油菌(BL21 Star (DE3)pLysS Glycerol Stock), 是收集生长在对数期的 BL21 Star (DE3)pLysS 菌, 加入含有甘油的细菌冻存液制备而成。本甘油菌可以直接划平板或小量、大量培养。BL21 Star (DE3)pLysS 甘油菌也常被写作 BL21 Star (DE3) pLysS 甘油菌。

BL21 Star (DE3)pLysS 菌株来源于 BL21 (DE3), 含有 *rne131* 突变(RNaseE 基因突变), RNaseE 基因的突变降低了内源 RNase 的积累, 增强了菌株细胞内 mRNA 的稳定性, 从而提高了异源蛋白的表达水平。

BL21(DE3)是 BL21 被 λ 噬菌体 DE3 溶原化(lysogenization)的衍生菌株, 在 lacUV5 启动子控制下可表达噬菌体 T7 RNA 聚合酶(相关基因序列已经整合到细菌染色体中)。IPTG 可以诱导 BL21(DE3)菌株中 T7 RNA 聚合酶的高表达, 因此 BL21(DE3)菌株适合受 T7 启动子(T7 promoter)调控的目的基因通过 IPTG 诱导表达。常见的 pET 系列原核表达载体中目的基因的表达都是受 T7 启动子调控的, 因此都适合用 BL21(DE3)作为宿主菌。

BL21 Star (DE3)pLysS 菌株在 BL21(DE3)基础上改造而成, 主要适用于 T7 启动子表达载体(如 pET 系列)的高水平蛋白表达, 同时含有大肠杆菌 RNA 聚合酶。

BL21(DE3)pLysS 菌株携带 pLysS, 具有氯霉素抗性, 可以表达能抑制 T7 RNA 聚合酶的 T7 溶菌酶(T7 lysozyme), 从而可以抑制 T7 RNA 聚合酶在目的蛋白被 IPTG 诱导前的本底表达, 即导致本底性的外源重组蛋白的表达被有效抑制。这种情况下特别适合于影响细胞生存和活力的外源毒性蛋白的表达。

BL21 Star (DE3)pLysS 菌株与 BL21(DE3)pLysS 相比, 含有 *rne131* 突变(RNaseE 基因突变), 导致细胞内 RNaseE 缺少, 细胞内 mRNA 稳定性提高, 从



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

而可以实现异源蛋白的高表达。BL21 Star (DE3)pLysS 菌株主要适用于 T7 启动子表达载体(如 pET 系列)的高水平蛋白表达, 同时含有大肠杆菌 RNA 聚合酶, 也可用于非 T7 启动子表达载体(pGEX、pMAL 等)的蛋白表达。由于 BL21Star (DE3)菌株的异源基因基础表达水平较高, 所以不适合毒性蛋白的表达。BL21 Star (DE3)pLysS 菌株携带 pLysS, 具有氯霉素抗性。pLysS 含有表达 T7 溶菌酶的基因, T7 溶菌酶可与 T7 RNA 聚合酶结合抑制其转录活性, 进而降低目的基因的背景表达水平, 但不干扰 IPTG 诱导的蛋白表达。pLysS 质粒含有 p15A 复制起始子, 可以和含有 pUC 或 pBR322 等复制起始子的质粒兼容。

BL21 Star (DE3)pLysS 菌株基因型: F_{γ} ompT hsdSB (rB - mB -) gal dcm rne131 (DE3)pLysS (CamR)

本菌株可以使用常规的 2YT 或 LB 培养基进行培养。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R32156	BL21 Star (DE3)pLysS 甘油菌	200 μ l
—	说明书	1 份

保存条件:

-20℃ 保存, 一年有效。

注意事项:

使用本甘油菌时可以不完全融解, 在甘油菌表面蘸取少量涂板或进行液体培养即可。也可以完全融解后使用, 但随着冻融次数的增加细菌的活力会逐渐下降。在没有结冻的情况下, 菌体会逐渐沉淀至管底, 请务必注意适当混匀后使用。

为保证菌种纯正, 避免其它细菌污染, 尽量先划平板然后再挑单克隆菌落进行后续操作。

本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。

为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 划平板接种:

取出甘油菌置于冰上，并置于超净台内，后续操作都在超净台内操作。

a. 用镊子和塑料枪头操作：镊子的顶端在 70%酒精中蘸一下，并且在酒精灯上略略烧一下，使镊子的顶端处于无菌状态。用镊子夹取一个无菌的 200 μ l 塑料枪头，蘸取少量甘油菌，然后把蘸有菌液的塑料枪头，以尽量和 2YT 或 LB 平板接近平行的角度，在含 34 μ g/ml 氯霉素的 2YT 或 LB 平板上连续作 S 形或 Z 形划动，再用一无菌的 200 μ l 塑料枪头，在原先的划线上以 90°或 120°角，再在 2YT 或 LB 平板上连续作 S 形或 Z 形划动。通常换枪头重复操作 2-3 次即可。37°C 倒置培养过夜。

b. 用接种环操作：将接种环在酒精灯上略略烧一下，使接种环处于无菌状态。微冷后，蘸取少量甘油菌，在含 34 μ g/ml 氯霉素的 2YT 或 LB 平板上连续作 S 形或 Z 形划动。把接种环再烧一下，微冷后，在原先的划线上以 90°或 120°角，再在 2YT 或 LB 平板上连续作 S 形或 Z 形划动。通常用接种环重复操作 2-3 次即可。37°C 倒置培养过夜。

2. 直接培养：

取出甘油菌置于冰上，并置于超净台内，后续操作都在超净台内操作。把镊子的顶端在 70%酒精中蘸一下，并且在酒精灯上略略烧一下，使镊子的顶端处于无菌状态。用镊子夹取一个无菌的塑料枪头或牙签，蘸取甘油菌，然后把蘸有菌液的塑料枪头或牙签放到装有 3ml 2YT 或 LB (含 34 μ g/ml 氯霉素)的细菌培养试管内或装有 100ml 或更大体积 2YT 或 LB (含 34 μ g/ml)氯霉素的细菌培养瓶内。37°C，约 200rpm 培养过夜。

3. 感受态细菌的制备：

可以使用一步法感受态细菌制备试剂盒、超级感受态细菌制备试剂盒进行感受态细胞的制备。