



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(DE3)pLysS 甘油菌(低本底蛋白诱导表达用)

产品编号	产品名称	包装
R32157-200ul	BL21(DE3)pLysS 甘油菌(低本底蛋白诱导表达用)	200μl

产品简介:

源叶生产的 BL21(DE3)pLysS 甘油菌，是收集生长在对数期的 BL21(DE3)pLysS 菌，加入含有甘油的细菌冻存液制备而成。可以直接划平板或微量、大量培养。本菌株适用于 T7 启动子(T7 promoter)调控目的基因表达的 pET 系列等原核表达质粒，特别适合于影响细菌生存和活力的外源毒性蛋白的 IPTG 诱导表达。

BL21 缺失细胞质中的 Lon 蛋白酶(Lon protease)和胞外膜上的 OmpT 蛋白酶(OmpT protease)，能有效避免重组表达蛋白的降解，所以被广泛用作外源蛋白的表达菌株。

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(DE3)pLysS 菌株携带 pLysS 质粒，具有氯霉素抗性，可以表达能降解 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。因此本菌株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(DE3)pLysS 菌株基因型：F - ompT hsdSB (rB - mB -) gal dcm (DE3) pLysS (CamR)

BL21(DE3)pLysS 菌株核酸酶表达水平较高，在利用其进行被转化质粒提取时，为充分避免核酸酶的影响，可使用质粒微量抽提试剂盒(通用型)、质粒中量抽提试剂盒(通用型)或质粒大量抽提试剂盒(通用型)进行质粒抽提。



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

本菌株可以使用常规的 LB 培养基或 SOC 培养基进行培养。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R32157-200ul	BL21(DE3)pLysS 甘油菌(低本底蛋白诱导表达用)	200μl
—	说明书	1 份

保存条件:

-20℃ 保存, 60 个月有效。

注意事项:

使用本甘油菌时可以不必要完全融解, 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取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 BL21(DE3)pLysS 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 200μl 塑料枪头, 蘸取少量 BL21(DE3)pLysS 甘油菌, 然后把蘸有菌液的塑料枪头, 以尽量和 LB 平板(含有 34μg/ml 氯霉素)接近平行的角度, 在 LB 平板上连续作 S 形或 Z 形划动, 再用一无菌的 200μl 塑料枪头, 在原先的划线上以 90°或 120°角, 再在 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℃ 倒置培养过夜。



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

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 BL21(DE3)pLysS 甘油菌, 在 LB 平板(含有 34 μ g/ml 氯霉素)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 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 BL21(DE3)pLysS 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, 蘸取少量 BL21(DE3)pLysS 甘油菌, 然后把蘸有菌液的塑料枪头或牙签放到装有 3ml LB(含有 34 μ g/ml 氯霉素)的细菌培养试管内或装有 100ml 或更大体积 LB(含有 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或其它方法进行感受态细胞的制备。