

## ClearColi BL21(DE3)二代甘油菌种说明书

### ● 产品规格 (CAT#: Bes-2200)

ClearColi BL21(DE3)二代甘油菌	400 $\mu$ l / 1 支	保存: -80 $^{\circ}$ C/大于 10 年
LB 平板	9cm / 2 块	4 度保存/30 天
一次性接种环	4 支	——

### ● 基因型

F- ompT hsdSB(rB-mB- ) gal dcm lon  $\lambda$ (DE3 [lacI lacUV5-T7 gene 1 ind1 sam7 nin5]) msbA148  $\Delta$ gutQ  $\Delta$ kdsD  $\Delta$ lpxL  $\Delta$ lpxM  $\Delta$ pagP  $\Delta$ lpxP  $\Delta$ eptA

### ● 产品说明

ClearColi BL21(DE3)来源于BL21(DE3), 在BL21(DE3)中引入 8 个独立基因突变, 导致 ClearColi BL21(DE3)细胞壁外层的脂多糖 (LPS) 被修饰:LPS的低聚糖链被删除, 同时 LPS 的两个酰基链也被删除, 破坏了 ClearColi BL21(DE3)大肠杆菌的内毒素信号通路; 正常的 LPS 含有六个酰基链, 含有六个酰基链的 LPS 可以被受体 TLR4 识别, 激活内毒素反应, 而只含有四个酰基链的 LPS 不能被 TLR4 识别, 因此不触发内毒素反应。从 ClearColi BL21(DE3)细胞中提取的蛋白或质粒 DNA 中的内毒素含量极低, 提取的无内毒素蛋白或多肽广泛应用于哺乳动物试验, 疾病治疗等。ClearColi BL21(DE3)同时为 Lon 蛋白酶和膜外蛋白酶 OMPT 的缺陷型菌株, 这两种酶的缺失有效防止异源蛋白在大肠杆菌体内的降解, 提高了目标蛋白的稳定性和表达量。 $\lambda$  噬菌体 DE3 区含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶, 该区整合于 ClearColi BL21(DE3)的染色体上, 可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。本产品为二代甘油菌株(一代种扩增两个世代后保种), 未经过大量扩繁, 核 DNA 及表型稳定, 菌落表型及生长曲线与原种匹配度大于 99.5%。

### ● 操作方法

1, 客户收到菌株后, 不可直接吸取菌液接种扩繁。应先对菌种进行复壮, 待长出单菌落后挑单菌落接种扩繁; 复壮方法如下: 在超净台打开盖子, 用接种环沾取少量甘油菌液采用交叉划线法(图 1)在 LB 平板表面轻轻划线(注意: 不要刺破培养基), 将平板封口后放 37 度培养 15-20h, 即可长出单菌落。

2, 交叉划线法: 划线的目的是经过几次不连续划线达到梯度稀释菌液的效果, 保证能长出单菌落。具体步骤如下:

A, -80 度取出的甘油菌应在超净台打开盖子, 立即在表面挑取菌液/菌块划线, 不用等融化后划线, 固体状态时即可用接种环挑取划线, 操作要点是“快速操作, 立即划线”, 目的是最大限度减少温度波动对菌种造成的“冷休克”和冰晶物理损伤; 如果收到的是液体甘油菌, 可直接划线, 在超净台打开盖子用接种环沾取少量甘油菌液划线。

B, 取出无菌接种环, 注意不要污染, 图 1 所示为标准的五段交叉划线法, 分五个区, 每个区划三条直线, 第 1、2 区可共用一个接种环, 划好 1, 2 区后换一个新接种环划第 3 区, 再换一个新接种环划第 4 区, 再换一个新接种环划第 5 区, 每一次换接种环划线要经过前面划线区的划线痕迹, 这样就相当于对菌种进行稀释。简易划线也可只划 3 个区或 4 个区。

C, 客户也可用金属接种环灼烧后划线; 本公司提供的接种环为 ABS 材质, 不可灼烧。

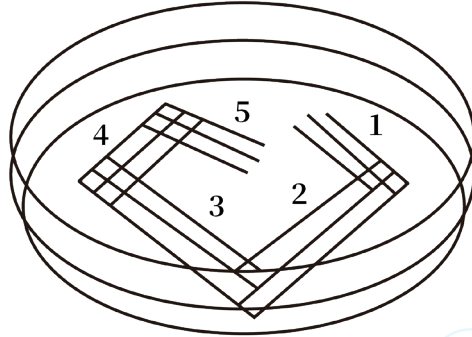


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 注意事项

- 1, 客户收到二代甘油菌株后, 应立即放-80 度保存, 不可放-20 度保存。
- 2, 应减少甘油菌冻融的次数, 冻融的次数越多, 菌种的活力越低;
- 3, 若扩繁菌种, 注意一次扩繁不要超过四个世代, 以保证菌种基因组的稳定; 扩增后重新保存的菌种必须对菌种做表型、功能验证, 所有表型、功能保持完好的菌株才能作为菌种使用。