

## BL21 Star(DE3)pLysS 二代甘油菌种说明书

### ● 产品规格 (CAT#: Bes-1006)

BL21 Star(DE3)pLysS 二代甘油菌	400 $\mu$ l / 1 支	保存: -80°C/大于 10 年
LB+cam34 平板	9cm / 2 块	4 度保存/30 天
一次性接种环	4 支	——

### ● 基因型

F ompT hsdS<sub>B</sub>(r<sub>B</sub><sup>-</sup> m<sub>B</sub><sup>-</sup>) gal dcm rne131 (DE3)pLysS (Cam<sup>R</sup>)

### ● 产品说明

BL21 Star(DE3)pLysS 菌株来源于 BL21(DE3), 含有 rne131 突变 (RNaseE 基因), RNaseE 基因的突变降低了内源 RNase 的积累, 增强菌株细胞内 mRNA 的稳定性, 从而提高异源蛋白的表达水平。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 BL21 Star(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 质粒, 具有氯霉素抗性。pLysS 含有表达 T7 溶菌酶的基因, T7 溶菌酶可以作用于大肠杆菌细胞壁上的肽聚糖溶解大肠杆菌, 还可与 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。本产品为二代甘油菌株(一代种扩增两个世代后保种), 未经大量扩繁, 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菌扩繁; 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+cam34 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。

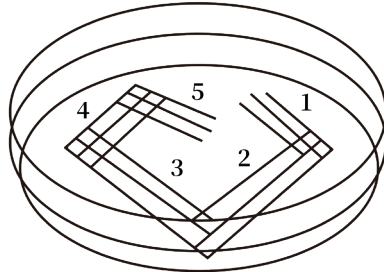


图 1. 五段交叉划线法示意图

### ● 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。