

Lemo21(DE3) 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bes-3001)

Lemo21(DE3) 二代甘油菌	400 μ l / 1 支	保存: -80 $^{\circ}$ 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

fhuA2 [lon] ompT gal (λ DE3) [dcm] Δ hsdS / pLemo(Cam^R)

● 产品说明

Lemo21(DE3)菌株适用于毒性蛋白, 膜蛋白, 及其他容易形成包涵体的蛋白的原核表达; 缺少 Lon 蛋白酶和 OmpT 蛋白酶, 减少对重组蛋白的降解; fhuA2 突变赋予 Lemo21(DE3)菌株对噬菌体 T1 的抗性。大肠杆菌中的膜蛋白表达和输出都受到 Sec 转位酶转运能力的限制, 如果 T7 RNA 聚合酶的活力过高, 超过 Sec 转位酶的转运能力, 会导致蛋白毒性产生或包涵体的形成, pLemo 质粒 (具有氯霉素抗性) 含有一个鼠李糖诱导的 T7 溶菌酶表达框, 可以高效表达 T7 溶菌酶, T7 溶菌酶是 T7 RNA 聚合酶的抑制剂, 可抑制 T7 RNA 聚合酶的转录活性, 降低目标蛋白的合成速度, 减少包涵体的形成, 提高毒性蛋白, 膜蛋白, 及其他容易形成包涵体的蛋白的原核表达成功率。Lemo21(DE3)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+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。

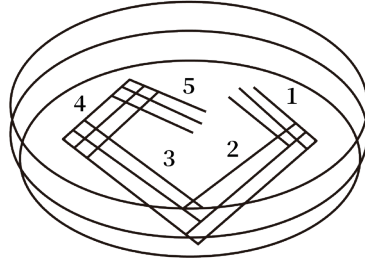


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 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。