

C43(DE3) pLysS 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bes-1041)

C43(DE3) pLysS 二代甘油菌	400 μ 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_B (r_B⁻ m_B⁻) gal dcm (DE3)pLysS Cam^R

● 产品说明

OverExpress C43(DE3)、OverExpress C41(DE3)两个菌株均起源于 BL21(DE3), 其优点是可以高效表达毒性蛋白或疏水性蛋白。OverExpress C41(DE3)跟 BL21(DE3)的区别在于其基因组合有至少一个未知突变, 这个未知突变使其获得了高效表达毒性蛋白的能力, 此突变位点参与大肠杆菌表达毒性蛋白时的细胞死亡途径; OverExpress C43(DE3)来源于 OverExpress C41(DE3), 是通过筛选 OverExpress C41(DE3)对另一个不同毒性蛋白的抗性菌株获得。C43(DE3)菌株具有比 C41(DE3)更强的表达毒性蛋白和疏水性蛋白的能力。将具有氯霉素抗性的 pLysS 质粒导入 C43(DE3)细胞中即是 C43(DE3) pLysS, pLysS 表达 T7 溶菌酶, T7 溶菌酶可以与 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, 非常适合毒性蛋白的原核表达。该菌株染色体整合了 λ 噬菌体 DE3 区 (DE3 区含有 T7 噬菌体 RNA 聚合酶), 可同时表达 T7 RNA 聚合酶和大肠杆菌 RNA 聚合酶, 可用于 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。

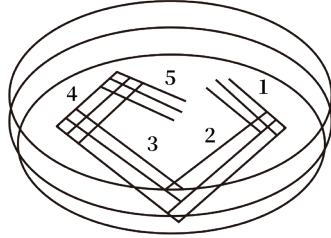


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 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。