

Rosetta-gami B(DE3)pLysS 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bes-1017)

Rosetta-gami B(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_Bm_B⁻) gal dcm lacY1 ahpC (DE3) gor522::Tn10 trxB pLysSRARE (Cam^R, Kan^R, Tet^R)

● 产品说明

Rosetta-gami B(DE3)pLysS 菌株聚合了不同原核表达菌株的优点:

- * Rosetta-gami B 赋予其 Rosetta 和 Origami B 的优点——补充大肠杆菌缺乏的 6 种稀有密码子(AUA, AGG, AGA, CUA, CCC, GGA)对应的 tRNA, 提高外源基因的表达水平, 并且包含突变的硫氧还蛋白还原酶(thioredoxin reductase) (trxB)和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase) (gor)基因, 它们是还原途径的两个关键酶, 其突变有利于高效形成正确折叠的含有二硫键的蛋白, 增强蛋白的可溶性。
- * 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)适合 T7 启动子诱导的蛋白表达。
- * 该菌株携带的 pLysS 质粒含有表达 T7 溶菌酶的基因, 能够降低目的基因的背景表达水平, 但不干扰 IPTG 诱导的表达, 适合表达毒性蛋白和非毒性蛋白。Rosetta-gami B(DE3)pLysS 菌株具有氯霉素, 卡那霉素, 四环素抗性。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。

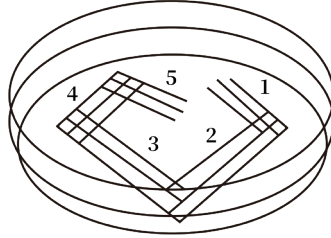


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 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。