天净沙系列

CAT#:12-42 低温运输,-80℃保存



大肠杆菌 BL21(DE3) plysS 菌种 E.coli BL21(DE3) plysS Strain

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506 网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点

该菌株来源于在大肠杆菌 B 系的、广泛用于外源蛋白表达的 BL21 (DE3) 菌株中转入一个 pLysS 质粒而得,主要用于表达对宿主有毒性、一般情况下很难表达的那些基因。它具有下列特点:

- 1. 染色体上携带由 lacUV5 启动子控制的 T7 RNA 聚合酶基因,故在 IPTG 诱导下,可以高效表达 T7 启动子驱动的外源基因。
- 2. 携带 pLysS 质粒,该质粒使菌株为氯霉素(34ug/mL)抗性,其 lysS 基因编码的 T7 溶菌酶可以阻止 T7 RNA 聚合酶和其启动子的结合,阻断背景表达,故本菌株主要用于毒性蛋白的表达。
- 3. 由于 pLysS 的复制起始位点为 p15A 型, 跟复制起始位点为 ColE1 和 pMB1 型的质粒兼容,故外源基因可以克隆到 pUC 系列或 pBR322 系列 的质粒中。
- 4. 缺失 lon 和 ompT两个蛋白酶基因,有利于外源蛋白的纯化。
- 5. EcoB 系统 Eco 位点识别能力缺失,导致 EcoB 甲基化修饰和限制功能均失,甲基化和非甲基化质粒均可转入本菌种。
- 6. 本菌株具有氯霉素抗性。

基因型

大肠杆菌 BL21(DE3)pLysS 菌种的基因型是: B 系, F-, pLysS, lon-11, $\Delta(ompT-nfrA)885$, $\Delta(galM-ybhJ)884$, $\lambda DE3$ [lacI lacUV5-T7 gene 1 ind1 sam7 nin5], $\Delta 46$, $[mal+]_{K-12}(\lambda^S)$, hsdS10(各文献上报道的基因型稍微有所不同,此处采用美国耶鲁大学 Coli Genetic Stock Center 的资料)。

大肠杆菌 BL21(DE3) pLysS 基因型符号及其含义列表如下:

基因型符号	含义
B系	B系大肠杆菌默认基因型是 lon dcm, lon 突变是 lon 启动子有一个 IS186 插入突变,使 ATP 依赖性蛋白酶 Lon 缺失,提高重组蛋白产量; dcm 突变使胞嘧啶甲基化酶失活,CCWGG 中的第二个 C 不再被甲基化,可通过影响甲基化依赖的突变修复系统而提高突变率
F-	不携带 F 质粒
lon-11	描述见上
pLysS	携带 pLysS 质粒,由 T7 基因 3.5(即溶菌酶基因)克隆进 pACYC184 的 BamHI 位点而得,其复制起始位点为 p15A 型,为氯霉素抗性
λ(DE3[lacI lacUV5-T7	染色体携带 DE3 λ原噬菌体,此片段后者又 携带 lacL sam7I等基因和由 lacUV5 启动

	gene1 ind1 sam7 nin5])	子控制的 T7 RNA 聚合酶基因
	Δ(galM-ybhJ)884	缺失 galMKTE、modFE、acrZ、modABC、
		ybhA、pgl、ybhD、ybhH、ybhI和 ybhJ
		基因
	hsdS10	EcoB 系统 Eco 位点识别能力缺失,导致甲
		基化修饰和限制功能均失
[mal $^+$] $_{ extit{K-12}}(\lambda^s)$		malK、lamB、malM来于 E. coli K-12,
	为野生型,通过转导获得。野生型的 lamB	
		使得菌株对λ噬菌体感染敏感
	Δ(ompT-nfrA)885	缺失从 DLP12 原噬菌体到 Rhs 因子这段
		区域,包括 appY 、ompT、envY、ybcH
		和 nfrA 五个基因。其中 ompT 编码外膜蛋
		白酶 VII,其缺失降低了蛋白降解,有利于
		表达蛋白纯化

原始文献

Studier F.W. 1991. Use of bacteriophage T7 lysozyme to improve an inducible T7 expression system. *J Mol Biol.* 219(1):37-44.

规格及成分

成分	编号	塑料袋包装
大肠杆菌 BL21(DE3)plysS 甘油菌	12-42	0.5 mL
使用手册	12-42sc	1 份

运输及保存

低温运输,-80℃保种保存,有效期一年。

使用方法

本产品可用于常规大肠杆菌感受态细胞制备、转化等实验,具体步骤请见分子 克隆手册等工具书。

20181203MH