



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

Rosetta(DE3)甘油菌(密码子兼容的蛋白诱导表达)

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------|-------------------------------|-------|
| D0371 | Rosetta(DE3)甘油菌(密码子兼容的蛋白诱导表达) | 200μl |

产品简介:

- 碧云天生产的Rosetta(DE3)甘油菌, 是收集生长在对数期的Rosetta(DE3)菌, 加入含有甘油的细菌冻存液制备而成。可以直接划平板或小量、大量培养。本菌株适用于T7启动子(T7 promoter)调控目的基因表达的pET系列等原核表达质粒, 特别适合带有真核基因特异性的稀有密码子的真核基因在大肠杆菌中的IPTG诱导表达, 能有效提高真核基因的蛋白表达水平。
- BL21缺失细胞质中的Lon蛋白酶(Lon protease)和胞外膜上的OmpT蛋白酶(OmpT protease), 能有效避免重组表达蛋白的降解, 所以被广泛用作外源蛋白的表达菌株。
- BL21(DE3)是BL21被λ噬菌体DE3溶原化(lysogenization)的衍生菌株, 在lacUV5启动子控制下可表达噬菌体T7 RNA聚合酶(相关基因序列已经整合到细菌染色体中)。IPTG可以诱导BL21(DE3)菌株中T7 RNA聚合酶的高表达, 因此BL21(DE3)菌株适合受T7启动子(T7 promoter)调控的目的基因通过IPTG诱导表达。常见的pET系列原核表达载体中目的基因的表达都是受T7启动子调控的, 因此都适合用BL21(DE3)作为宿主菌。
- Rosetta是大肠杆菌BL21(DE3)的衍生菌株, 含有一个氯霉素抗性基因的质粒, 该质粒可转录产生识别6种大肠杆菌的稀有密码子(AUA, AGG, AGA, CUA, CCC, GGA)的tRNA(这些tRNA是由它们天然的promoter驱动转录的), 由此Rosetta能够大大提高带有真核基因特异的稀有密码子的真核基因在大肠杆菌中的表达水平。
- Rosetta(DE3)是Rosetta被λ噬菌体DE3溶原化的菌株, 在lacUV5启动子控制下可表达噬菌体T7 RNA聚合酶, 因此其适合通过IPTG诱导的、克隆到pET系列载体中的、带有对于大肠杆菌而言是稀有密码子的真核基因的表达。
- Rosetta(DE3)基因型: F *ompT hsdSB* (r_B⁻ m_B⁻) *gal dcm* (DE3) pRARE (Cam^R).
- Rosetta(DE3)菌株核酸酶表达水平较高, 在利用其进行被转化质粒提取时, 为充分避免核酸酶的影响, 可使用碧云天生产的质粒小量抽提试剂盒(通用型) (D0007S 或 D0007M)、质中量抽提试剂盒(通用型) (D0020)或质粒大量抽提试剂盒(通用型) (D0028)进行质粒抽提。
- 本菌株可以使用常规的 LB 培养基或 SOC 培养基进行培养。
- 关于碧云天不同甘油菌菌种的比较和选择, 可参考我们的相关网页: <http://www.beyotime.com/support/strain.htm>

包装清单:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------|-------------------------------|-------|
| D0371 | Rosetta(DE3)甘油菌(密码子兼容的蛋白诱导表达) | 200μl |
| — | 说明书 | 1份 |

保存条件:

-20°C保存, 至少3个月有效。-80°C可以长期保存。

注意事项:

- 使用本甘油菌时可以不必要完全融解, 在甘油菌表面蘸取少量涂板或进行液体培养即可。也可以完全融解后使用, 但随着冻融次数的增加细菌的活力会逐渐下降。在没有结冻的情况下, 菌体会逐渐沉淀至管底, 请务必注意适当混匀后使用。
- 为保证菌种纯正, 避免其它细菌污染, 尽量先划平板然后再挑取单克隆菌落进行后续操作。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 划平板接种:

取出Rosetta(DE3)甘油菌置于冰上, 并置于超净台内, 后续操作都在超净台内操作。

- 用镊子和塑料枪头操作:** 镊子的顶端在70%酒精中蘸一下, 并且在酒精灯上略略烧一下, 使镊子的顶端处于无菌状态。用镊子夹取一个无菌的200μl塑料枪头, 蘸取少量Rosetta(DE3)甘油菌, 然后把蘸有菌液的塑料枪头, 以尽量和LB平板接近平行的角度, 在LB平板(含20μg/ml氯霉素)上连续作S形或Z形划动, 再用一无菌的200μl塑料枪头, 在原先的划线上以90°或120°角, 再在LB平板上连续作S形或Z形划动。通常换枪头重复操作2-3次即可。37°C倒置培养过夜。
- 用接种环操作:** 将接种环在酒精灯上略略烧一下, 使接种环处于无菌状态。微冷后, 蘸取少量Rosetta(DE3)甘油菌, 在LB平板(含20μg/ml氯霉素)上连续作S形或Z形划动。把接种环再烧一下, 微冷后, 在原先的划线上以90°或120°角, 再在LB平板上

连续作S形或Z形划动。通常用接种环重复操作2-3次即可。37°C倒置培养过夜。

2. 直接培养:

取出Rosetta(DE3)甘油菌置于冰上, 并置于超净台内, 后续操作都在超净台内操作。把镊子的顶端在70%酒精中蘸一下, 并且在酒精灯上略略烧一下, 使镊子的顶端处于无菌状态。用镊子夹取一个无菌的塑料枪头或牙签, 蘸取少量Rosetta(DE3)甘油菌, 然后把蘸有菌液的塑料枪头或牙签放到装有3ml LB(含20µg/ml氯霉素)的细菌培养试管内或装有100ml或更大体积LB(含20µg/ml氯霉素)的细菌培养瓶内。37°C, 约200rpm培养过夜。

3. 感受态细菌的制备

可以使用碧云天的一步法感受态细菌制备试剂盒(D0301)、超级感受态细菌制备试剂盒(D0302)或其它方法进行感受态细胞的制备。

相关产品:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------|-------------------------------|-------|
| D0332 | 2-T1甘油菌 | 200µl |
| D0337 | BL21(DE3)甘油菌(蛋白诱导表达菌株) | 200µl |
| D0339 | BL21(DE3)pLysS甘油菌(低本底蛋白诱导表达用) | 200µl |
| D0346 | DH10Bac甘油菌(重组Bacmid制备用菌株) | 200µl |
| D0351 | DH5α甘油菌(常规质粒构建和扩增用菌株) | 200µl |
| D0360 | JM109甘油菌(常规质粒构建和扩增用菌株) | 200µl |
| D0361 | JM110甘油菌(Dam和Dcm甲基化缺陷菌株) | 200µl |
| D0371 | Rosetta(DE3)甘油菌(密码子兼容的蛋白诱导表达) | 200µl |
| D0378 | Stbl3甘油菌(慢病毒等逆转录病毒载体扩增用) | 200µl |
| D0389 | TG1甘油菌(快速生长菌株) | 200µl |
| D0390 | TOP10甘油菌 | 200µl |
| D0391 | 细菌冻存液 | 50ml |
| D0301 | 一步法感受态细菌制备试剂盒 | 200次 |
| D0302 | 超级感受态细菌制备试剂盒 | 100次 |

Version 2022.07.05