



BL21 Star(DE3)pLysS Chemically Competent Cell

产品货号： BDC106

产品规格： 100μl/支

基因型： *F- ompT hsdSB(rB- mB-) gal dcm rne131 (DE3)pLysS (CamR)*

产品介绍：

BL21 Star(DE3)pLysS 菌株来源于 BL21(DE3)，含有 *rne131* 突变（RNaseE 基因），RNaseE 基因的突变降低了内源 RNase 的积累，增强菌株细胞内 mRNA 的稳定性，从而提高异源蛋白的表达水平。主要适用于 T7 启动子表达载体（如 pET 系列）的高水平蛋白表达，同时含有大肠杆菌 RNA 聚合酶，也可用于非 T7 启动子表达载体（pGEX，pMAL 等）的蛋白表达。由于 BL21 Star(DE3)菌株的异源基因基础表达水平较高，所以不适合毒性蛋白的表达。BL21 Star(DE3)pLysS 菌株携带 pLysS 质粒，具有氯霉素抗性。pLysS 含有表达 T7 溶菌酶的基因，T7 溶菌酶可以作用于大肠杆菌细胞壁上的肽聚糖溶解大肠杆菌，还可与 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。pLysS 质粒含有 p15A 复制起始子，可以和含有 pUC 或 pBR322 等复制起始子的质粒兼容。BL21 Star(DE3)pLysS 感受态细胞由特殊工艺制作，转化效率达 10^7 cfu/μg DNA。

操作方法：

1. BL21 Star(DE3)pLysS 感受态细胞从 -80℃ 拿出，迅速插入冰中，5 分钟后待菌块融化，加入目的质粒并用手拨打 EP 管底轻轻混匀，冰中静置 25 分钟。
2. 42℃ 水浴热激 45 秒，迅速放回冰上并静置 2 分钟，晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μl 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB)，混匀后 37℃，200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心一分钟收菌，留取 100 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37℃ 培养箱过夜培养。

Sample Induction Protocol (for reference only)

1. Inoculate a single colony from a freshly streaked plate into 5 ml of LB medium containing the appropriate antibiotic for the plasmid and host strain.
2. Incubate with shaking at 200 rpm at 37℃ overnight.
3. Inoculate 50 ml of LB medium containing the appropriate antibiotic with 0.5 ml of the overnight culture prepared in step 2 (use the 500 ml triangular flask as the container would be better).
4. Incubate with shaking at 150 rpm at 37℃ until the OD 600 reaches 0.5-0.8.
5. (Optional) Pipet 1ml of the cultures into clean microcentrifuge tubes and place the tubes on ice until needed for gel analysis or storage at -20℃. These will serve as the non-induced control samples.
6. Add IPTG to a final concentration of 1 mM. Optimal time for induction of the target protein may vary from 2-16 hours, depending on the protein.
7. Incubate with shaking at 120 rpm at 37℃ for 3-4 hours. To determine the optimal time for induction of the target protein, it is recommended that a time course experiment be performed varying the induction from 2-16 hours.
8. Place the culture on ice for 10 minutes. Harvest cells by centrifugation at 5,000 × g for 10 minutes at 4℃.
9. Remove the supernatant and store the cell pellet at -20℃ (storage at lower temperatures is also acceptable).

IPTG



Prepare a 1 M solution of IPTG (Isopropyl- β -D-thiogalactoside; Isopropyl- β -D-thiogalactopyran-oxide) by dissolving 2.38 g of IPTG in dd water and adjust the final volume to 10 ml. Filter sterilize before use.

注意事项：

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化，插入冰中 8 分钟内加入目标 DNA，不可在冰中放置时间过长，长时间存放会降低转化效率。
2. 混入质粒时应轻柔操作。
3. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 诱导时，IPTG 浓度可选（0.1-2mM 均可）。
5. 为获得需要量的蛋白，最佳诱导时间，温度，IPTG 浓度需实验者优化。
6. BL21 Star(DE3)pLysS 菌株携带 pLysS 质粒，除复苏培养基为无抗生素外，其余所用培养基、培养液均应含有 34 $\mu\text{g/ml}$ 氯霉素，以防质粒丢失。

保存条件：

-80℃保存 6 个月。