



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

## Origami(DE3)甘油菌(含二硫键活性蛋白表达用)

产品编号	产品名称	包装
D0373	Origami(DE3)甘油菌(含二硫键活性蛋白表达用)	200μl

### 产品简介:

- 碧云天生产的Origami(DE3)甘油菌(Origami(DE3) Glycerol Stock), 是取对数生长期的Origami(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。该菌株是常规重组蛋白表达菌株, 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, 一般用于含有二硫键的重组蛋白的表达。
- Origami系列菌株能够用于氨苄抗性质粒的蛋白表达, 尤其是和pET32a载体能够完美搭配使用。pET32a载体含有Thioredoxin (TRX)融合标签, 能够高效提升胞质内蛋白二硫键的形成。
- 为了减少细胞内多种分子间的二硫键的形成, 含有Thioredoxin reductase (TrxB)和Glutathione reductase (Gor)基因突变的宿主菌常被建议用于含二硫键正确折叠蛋白的高效表达。Origami系列菌株是大肠杆菌K-12细胞的改进版, 对胞质内二硫化物还原途径的两个酶TrxB和Gor同时突变, 使得该菌株能够更加高效的在胞质内生成二硫键, 有助于含有二硫键的活性蛋白的表达和折叠。研究表明使用Origami系列菌株比其他类型表达菌株所表达获得具有活性的二硫键蛋白要多10倍左右。
- TrxB和Gor基因突变使得质粒能够分别具有卡那霉素和四环素抗性, 因此本菌株无法用于带有卡那霉素和四环素抗性质粒的蛋白表达。
- DE3是溶源性的λDE3, 在lacUV5启动子下携带有T7 RNA聚合酶的染色体拷贝。
- Origami(DE3)菌株具有卡那霉素、链霉素以及四环素抗性, 属于亮氨酸缺陷型菌株。
- Origami(DE3)菌株基因型:  $\Delta(ara-leu)7697 \Delta lacX74 \Delta phoA PvuII phoR araD139 ahpC galE galK rpsLF'[lac^+ lacIq pro](DE3)gor522::Tn10 trxB$  (KanR, StrR, TetR)
- Origami(DE3)菌株核酸酶表达水平较高, 在利用其进行被转化质粒的提取时, 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) (D0007)、质粒中量抽提试剂盒(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2YT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
D0373	Origami(DE3)甘油菌(含二硫键活性蛋白表达用)	200μl
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20°C保存, 一年有效。-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Origami(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Origami(DE3)甘油菌, 然后把蘸有菌液的塑料枪头, 以尽量和LB或2YT平板接近平行的角度, 在LB或2YT平板(含10μg/ml四环素)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或2YT平板(含10μg/ml四环素)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Origami(DE3)甘油菌, 在LB

或2YT平板(含10 $\mu$ g/ml四环素)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或2YT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：

Origami(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，并且在酒精灯上稍稍烧一下，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Origami(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或2YT液体培养基(含10 $\mu$ g/ml四环素)的细菌培养试管内或装有100ml或更大体积LB或2YT液体培养基(含10 $\mu$ g/ml四环素)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
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
D0337	BL21(DE3)甘油菌(蛋白诱导表达菌株)	200 $\mu$ l
D0339	BL21(DE3)pLysS甘油菌(低本底蛋白诱导表达用)	200 $\mu$ l
D0341	BL21 Star (DE3)pLysS甘油菌(低本底蛋白高诱导表达用)	200 $\mu$ l
D0343	BL21-Gold(DE3)甘油菌(蛋白诱导表达兼质粒克隆菌株)	200 $\mu$ l
D0345	BL21-Gold(DE3)pLysS甘油菌(蛋白诱导表达兼质粒克隆菌株)	200 $\mu$ l
D0346	DH10Bac甘油菌(重组Bacmid制备用菌株)	200 $\mu$ l
D0351	DH5 $\alpha$ 甘油菌	200 $\mu$ l
D0353	TOP10甘油菌(常用克隆菌株)	200 $\mu$ l
D0355	EPI400甘油菌(诱导型高拷贝质粒菌株)	200 $\mu$ l
D0356-10ml	CopyCutter Induction Solution (200X)	10ml
D0356-50ml	CopyCutter Induction Solution (200X)	50ml
D0357	EPI300甘油菌(诱导型高拷贝质粒菌株)	200 $\mu$ l
D0359	XL1-Blue甘油菌(高拷贝质粒菌株)	200 $\mu$ l
D0361	JM110甘油菌(Dam和Dcm甲基化缺陷菌株)	200 $\mu$ l
D0371	Rosetta(DE3)甘油菌(密码子兼容的蛋白诱导表达)	200 $\mu$ l
D0373	Origami(DE3)甘油菌(含二硫键活性蛋白表达用)	200 $\mu$ l
D0378	Stbl3甘油菌	200 $\mu$ l
D0389	TG1甘油菌	200 $\mu$ l
D0391	细菌冻存液	50ml

Version 2022.12.01