

MDS42 recA 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bec-3051)

MDS42 recA 二代甘油菌	400 μ l / 1 支	保存: -80°C/大于 10 年
LB 平板	9cm / 2 块	4 度保存/30 天
一次性接种环	4 支	—

● 基因型

F- λ -lacZ Δ M15 recA1819 Δ endA Δ fhuACDB Δ 699gene

● 产品说明

MDS42 recA 菌株来源于 MDS42 菌株, 大肠杆菌基因组中含有大量非必需 DNA(包括复合转座子、简单转座子 (IS)、噬菌体/病毒序列/残留片段、假基因等), 这些非必需 DNA 的存在可导致基因组不稳定或提高大肠杆菌突变体产生的概率, 在构建一些含有毒性基因片段、噬菌体片段或其他原核基因组片段的质粒时往往导致质粒结构的不稳定或质粒中部分片段的丢失, 或错误重组。为了降低大肠杆菌基因组中这些无效 DNA 或有害 DNA 的影响, 提高大肠杆菌基因组和质粒 DNA 的稳定性, 利用合成生物学的方法, 删除 E.coli K-12 系野生型 MG1655 菌株的非必需 DNA, 同时保留细菌生长和质粒复制, 蛋白表达所需的必需基因, 产生了 MDS (Multiple-deletion Series) 菌株, MDS42 为筛选出的第 42 号株系, 此菌株共删除了 704 个基因 (MG1655 菌株基因组含有 4,639,675 个碱基, 约 4434 个基因; MDS42 菌株基因组含有 3,976,359 个碱基, 约 3730 个基因, 缺失了 663,316 个碱基, 占 MG1655 基因组的 14.30%), 其中 fhuABCD 四个基因的突变赋予 MDS42 recA 菌株对噬菌体 T1 的抗性; lacZ Δ M15 使其可以用于蓝白斑筛选实验; 核酸酶 endA 的删除有利于体内质粒 DNA 的稳定和高纯度 DNA 的提取; 另外还有 699 个基因被成功删除。将 recA1819 突变引入 MDS42 即是 MDS42 recA, 重组酶 recA1819 突变可降低错误重组的概率, 提高质粒稳定性。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种扩繁; 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 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 区后换一个接种环划第 3 区, 再换一个接种环划第 4 区, 再换一个接种环划第 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。

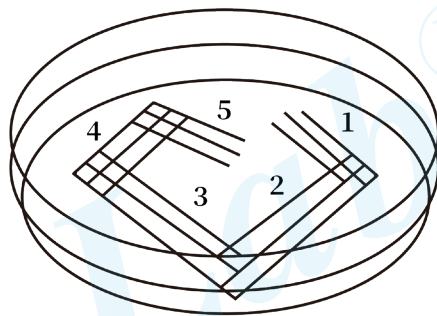


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 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。