

## SHuffle T7 E. coli 二代甘油菌种说明书

### ● 产品规格 (CAT#: Bes-2030)

SHuffle T7 E. coli 二代甘油菌	400 $\mu$ l / 1 支	保存: -80 $^{\circ}$ 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' lac, pro, lacIq /  $\Delta$ (ara-leu)7697 araD13fhuA2 lacZ::T7 gene1  $\Delta$ (phoA)Pvull phoR ahpC\* galE(or U) galK $\lambda$ att::pNEB3-r1-cDsbC (Spec<sup>R</sup>, lacIq)  $\Delta$ trxBrpsL150(Str<sup>R</sup>) $\Delta$ gor  $\Delta$ (malF)3

### ● 产品说明

SHuffle T7 E. coli 菌株是 K12 的衍生菌株。该菌株的染色体中整合了一个拷贝的二硫键异构酶 DsbC 基因，可以促进含有二硫键蛋白的正确折叠；此外 DsbC 还是一个分子伴侣，可以帮助不含二硫键蛋白正确折叠，形成正确构象，同时该菌株可降低目的基因的本底表达，适合于毒性基因的原核表达。SHuffle T7 E. coli 菌株染色体中整合了一个拷贝的 T7 RNA 聚合酶基因，可以表达噬菌体 T7 RNA 聚合酶，适合于 T7 启动子诱导的蛋白表达；该菌株还可以表达大肠杆菌 RNA 聚合酶，所以可用于 pET 系列，pGEX，pMAL 等质粒的蛋白表达。SHuffle T7 E. coli 菌株具有抗 T1 噬菌体感染的特性，具有链霉素，壮观霉素抗性。本产品为二代甘油菌株(一代种扩增两个世代后保种)，未经过大量扩繁，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菌扩繁；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 区后换一个新接种环划第 3 区，再换一个新接种环划第 4 区，再换一个新接种环划第 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。

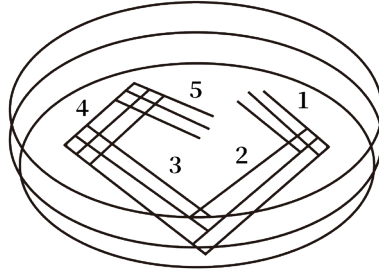


图 1. 五段交叉划线法示意图

### ● 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。