

SHuffle T7 E. coli pRARE 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bes-2032)

| | | |
|--------------------------------|-------------|-------------------|
| SHuffle T7 E. coli pRARE 二代甘油菌 | 400μl / 1 支 | 保存: -80°C/大于 10 年 |
| LB+cam34 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 / Δ(ara-leu)7697 araD13fhuA2 lacZ::T7 gene1 Δ(phoA)PvuII phoR ahpC* galE(or U) galKatt::pNEB3-r1-cDsbC (Spec^R, lacIq) ΔtrxBrsL150(Str^R)Δgor Δ(malF)3pRARE(Cam^R)

● 产品说明

SHuffle T7 E. coli pRARE 来源于 SHuffle T7 E. coli, 是 SHuffle T7 E. coli 衍生菌株, 属于 K12 亚型; 补充大肠杆菌缺乏的 6 种稀有密码子(AUA, AGG, AGA, CUA, CCC, GGA)对应的 tRNA, 可提高外源基因, 尤其是真核基因在原核系统中的表达水平。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; lacIq 可降低目的基因的本底表达, 适合毒性基因的原核表达。SHuffle T7 E. coli pRARE 菌株染色体中整合了一个拷贝的 T7 RNA 聚合酶, 可以表达噬菌体 T7 RNA 聚合酶, 适合 T7 启动子诱导的蛋白表达; 该菌株可同时表达大肠杆菌 RNA 聚合酶, 可用于 pET 系列, pGEX, pMAL 等质粒的蛋白表达。SHuffle T7 E. coli pRARE 菌株具有抗 T1 噬菌体的特点, 具有链霉素, 壮观霉素, 氯霉素抗性。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+cam34 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。

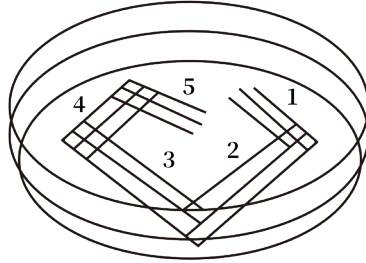


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 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。