

EPI300 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bec-1084)

EPI300 二代甘油菌	400 μ 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 – mcrA Δ (mirr-hsdRMS-mcrBC) ϕ 80dlacZ Δ M15 Δ lacX74 recA1 endA1 araD139 Δ (ara,leu)7697 galU galK λ – rpsL nupG trfA dhfr.

● 产品说明

EPI300 细胞含有一个突变的 trfA 基因, 该基因表达出的蛋白产物可以促进含有 ori V 复制子的质粒的高拷贝扩繁, 诱导剂 I 可以诱导 trfA 基因的表达。当含有 ori V 复制子质粒的 EPI300 细胞在 LB/2YT 或 SOB 培养基中生长时, trfA 基因的表达被抑制, ori V 复制子质粒的拷贝数维持在很低的水平; 当在培养基中加入诱导剂 I, ori V 复制子质粒的拷贝数可维持在很高的水平, 提高了质粒产量。因此 EPI300 菌株可以降低 ori V 复制子质粒的拷贝数, 特别适合于各种不稳定 DNA 或毒性基因的克隆。[mcrA, Δ (mirr-hsdRMS-mcrBC)]基因型使 EPI300 菌株适合于克隆富含甲基胞嘧啶或甲基腺嘌呤的 DNA (例如: 哺乳动物基因组 DNA)。recA1 和 endA1 的突变有利于插入 DNA 的稳定和高纯度质粒 DNA 的提取。lacZ Δ M15 标记的存在使 EPI300 可用于蓝白斑筛选, rpsL 赋予其链霉素抗性。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 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。

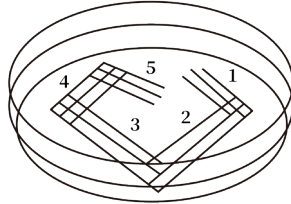


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 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。