

SM10- λ pir 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bec-3060)

| | | |
|---------------------------|-------------------|-------------------|
| SM10- λ pir 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

thi thr leu tonA lacY supE recA::RP4-2-Tc::Mu [λ pir]

● 产品说明

SM10- λ pir 是从 SM10 菌株改造而来, SM10 本身是 S17-1 菌株的衍生株。S17-1 是构建用于高效接合转移的经典菌株, 它整合了 RP4 质粒 (也称为 RK2 质粒) 的接合转移装置 (tra 基因) 到其染色体上。整合的 RP4 赋予 S17-1 (以及其衍生株 SM10) 将自身携带的可移动质粒高效地转移给受体菌的能力。在 SM10 的基础上, 通过溶原化的方式, 将 λ 噬菌体的一个特殊变体 λ pir 整合到了染色体上, 即 SM10- λ pir, pir 蛋白是 R6K 质粒复制起点 (oriR6K 或 oriV) 的特异性复制起始蛋白。只有表达 pir 蛋白的宿主细胞才能复制带有 oriR6K 复制起点的质粒。tonA: 对噬菌体 T1 具有抗性; lacY: β -半乳糖苷透性酶缺陷, 影响乳糖利用; recA 突变大大降低了菌株自身的重组能力, 有助于保持引入质粒的稳定性, 避免其与染色体或其他质粒发生不必要的重组; RP4-2-Tc::Mu: 这是最核心的特征之一, 这意味着完整的 RP4 质粒 (RK2 质粒) 的接合转移装置 (tra 基因) 被整合到了染色体上。这赋予了 SM10 (pir) 组成型表达接合转移功能的能力, 使其能作为高效的供体菌; 整合结构上还包含一个 Mu 噬菌体序列; 带有四环素抗性标记。SM10 λ pir 的主要用途就是作为接合转移实验中的供体菌 (Donor), 目标受体菌可以是其他革兰氏阴性菌, 如沙门氏菌、志贺氏菌、假单胞菌、耶尔森菌、霍乱弧菌等。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。

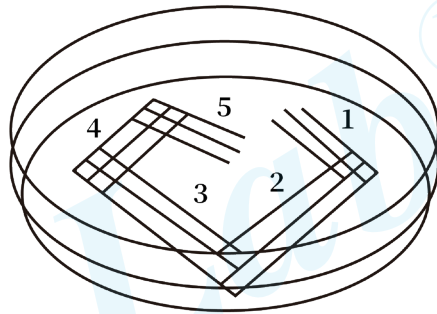


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 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。