

## NS3529 二代甘油菌种说明书

### ● 产品规格 (CAT#: Bec-3010)

NS3529 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- recA endA1 mcrA (mcrB, mrr, hsdR, hsdM)Aimm434nin5X1-CRE

### ● 产品说明

NS3529 菌株是一种表达 CRE 酶的大肠杆菌菌株。此菌株体内重组酶系统整条通路被破坏;重组酶缺陷型 (recA)减少插入片段的同源重组概率,保证质粒 DNA 的稳定性。同时 NS3529 菌株可表达来自 P1 噬菌体的 CRE 酶,可用于利用 Cre-LoxP 系统的进行重组的大质粒构建或人工染色体合成。本产品为二代甘油菌种(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。

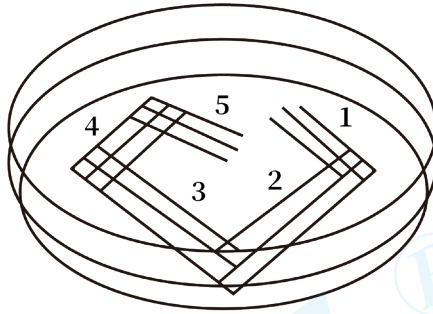


图 1. 五段交叉划线法示意图

### ● 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。