

SCK6 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bbs-1040)

SCK6 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: his, nprR2, nprE18, Δ aprA3, Δ eglS102, Δ bglT, bglS, lacA::PxylA-comK Erm^R

● 产品说明

枯草芽孢杆菌是革兰氏阳性菌，细胞壁不含脂多糖（LPS），表达的蛋白无需额外去除内毒素，适合医药或食品级应用；天然具有高效的分泌系统，可将目标蛋白直接分泌到培养基中，简化纯化步骤；多数情况下无包涵体问题，表达的可溶性蛋白正确折叠，尤其适合含二硫键的蛋白（胞外环境有助于氧化折叠）；培养简单，生长快，普通 LB 培养基、37 $^{\circ}$ C 振荡即可快速生长，发酵工艺成熟。SCK6 菌株是 1A751 的衍生菌株，是 1A751 经 pAX01-comK 双交换整合获得的重组菌株，在 lacA 位点插入木糖诱导型 comK 表达盒（comK 为感受态主调控因子），可提高转化效率，常用于构建枯草芽孢杆菌文库。nprR2, nprE18: 中性蛋白酶 NprE 相关基因缺陷； Δ aprA3: 碱性蛋白酶基因 aprA3 缺失，进一步降低蛋白酶活性，适合外源蛋白表达； Δ eglS102, Δ bglT, bglS: 敲除/失活了自身纤维素酶、 β - 葡聚糖酶基因，本底酶活极低，适合做纤维素酶筛选实验。

● 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 15-24h，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。

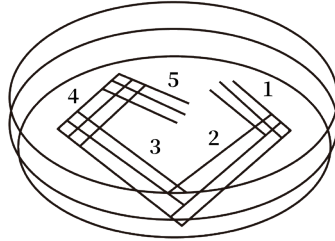


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 质粒, 抗生素和培养基:

部分枯草芽孢杆菌表达质粒 (pDG364、pHT43、pHT1469、pHT254【唯地货号: PB1011、PB1021、PB1031、PB1041】等) 使用氯霉素进行筛选, SCK6 使用的筛选浓度是 5ug/ml(氯霉素溶液唯地货号: YC9030L)。LB 液体培养基货号: CM1010L; LB 固体培养基货号: CM1010S。

● 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, 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。

2, 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。