



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

DH10Bac 甘油菌(重组 Bacmid 制备用菌株)

产品编号	产品名称	包装
R32195-200ul	DH10Bac 甘油菌(重组 Bacmid 制备用菌株)	200ul

产品简介:

源叶生产的 DH10Bac 甘油菌, 是收集生长在对数期的 DH10Bac 菌, 加入含有甘油的细菌冻存液制备而成。可以直接划平板或小量、大量培养。

DH10Bac 是昆虫杆状病毒 Bac-to-Bac 系统中常用的同源重组大肠杆菌菌株。该菌株含有杆状病毒穿梭载体(baculovirus shuttle vector) bMON14272(俗称 bacmid, 其含有一个转座反应必须的 mini-attTn7 重组位点)和一个辅助质粒 pMON7124(用于表达转座所需的转座蛋白)。DH10Bac 主要用作 pFastBac 等类似载体转化的宿主菌株。当 pFastBac 重组质粒转化进入 DH10Bac 细胞后, pFastBac 载体上的 mini-Tn7 位点和 DH10Bac 宿主菌中 bacmid 上的 mini-attTn7 位点之间发生转座(transposition), 产生重组的 bacmid。重组的 bacmid 在转染昆虫细胞后可产生含有重组子的杆状病毒, 后者进一步感染昆虫细胞后即可启动外源重组蛋白的表达。

DH10Bac 宿主包含的 bacmid bMON14272 含小型 F 复制子, 卡那霉素抗性基因, mini-attTn7 位点和 lacZ α 互补因子(可通过蓝白斑筛选); 辅助质粒 pMON7124 包含四环素抗性和 tnsABCD 区域, 该区域表达转座反应所需的转座蛋白。携带 T7 转座原件(Tn7 element)的供体质粒 pFastBac (donor pFastBac plasmid)带有庆大霉素抗性基因, 杆状病毒多角体启动子, 多克隆位点区域和 SV40 的多腺苷酸化信号。

使用超级感受态细菌制备试剂盒制备 DH10Bac 感受态细胞, 转化在多克隆位点插入目的基因的 pFastBac 重组质粒产生重组的 bacmid, 利用杆状病毒穿梭载体 bacmid 小量抽提试剂盒提取重组 bacmid DNA, 将重组 bacmid DNA 转染进入昆虫细胞产生重组杆状病毒, 扩增重组的杆状病毒并用其感染昆虫细胞, 就可以大规模表达重组目的蛋白。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

DH10Bac 菌株具有卡那霉素抗性和四环素抗性, pFastBac 质粒具有庆大霉素(Gentimicin)抗性和氨苄青霉素抗性。 DH10Bac 菌株基因型: $F_1 mcrA \Delta (mrr-hsdRMS-mcrBC) \Phi 80lacZ \Delta M15 \Delta lacX74 recA1 endA1 araD139 \Delta (ara, leu)7697 galU galK \lambda - rpsL nupG / pMON14272 / pMON7124$ 。

重组后的克隆用蓝白斑进行筛选, 重组成功的克隆在含有卡那霉素和四环素抗性的 IPTG/X-Gal LB 平板上呈现为白色菌落。

本菌株可以使用常规的 LB 培养基或 SOC 培养基进行培养。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R32195-200ul	DH10Bac 甘油菌(重组 Bacmid 制备用菌株)	200ul
—	说明书	1 份

保存条件:

-20℃ 保存, 60 个月有效。

注意事项:

使用本甘油菌时可以不必要完全融解, 在甘油菌表面蘸取少量涂板或进行液体培养即可。也可以完全融解后使用, 但随着冻融次数的增加细菌的活力会逐渐下降。在没有结冻的情况下, 菌体会逐渐沉淀至管底, 请务必注意适当混匀后使用。

为保证菌种纯正, 避免其它细菌污染, 尽量先划平板然后再挑取单克隆菌落进行后续操作。

本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。

为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 划平板接种:

取出 DH10Bac 甘油菌置于冰上, 并置于超净台内, 后续操作都在超净台内操作。



a. 用镊子和塑料枪头操作: 镊子的顶端在 70%酒精中蘸一下, 并且在酒精灯上略略烧一下, 使镊子的顶端处于无菌状态。用镊子夹取一个无菌的 200 微升塑料枪头, 蘸取少量 DH10Bac 甘油菌, 然后把蘸有菌液的塑料枪头, 以尽量和 LB 平板接近平行的角度, 在卡那霉素(100 μ g/ml)和四环素(10 μ g/ml)的 LB 平板上连续作 S 形或 Z 形划动, 再用一无菌的 200 微升塑料枪头, 在原先的划线上以 90 或 120 度角, 再在 LB 平板上连续作 S 形或 Z 形划动。通常换枪头重复操作 2-3 次即可。37 $^{\circ}$ C 倒置培养过夜。

b. 用接种环操作: 将接种环在酒精灯上略略烧一下, 使接种环处于无菌状态。微冷后, 蘸取少量 DH10Bac 甘油菌, 在含有卡那霉素(100 μ g/ml)和四环素(10 μ g/ml)抗生素的 LB 平板上连续作 S 形或 Z 形划动。把接种环再烧一下, 微冷后, 在原先的划线上以 90 $^{\circ}$ 或 120 $^{\circ}$ 角, 再在 LB 平板上连续作 S 形或 Z 形划动。通常用接种环重复操作 2-3 次即可。37 $^{\circ}$ C 倒置培养过夜。

2. 直接培养:

取出 DH10Bac 甘油菌置于冰上, 并置于超净台内, 后续操作都在超净台内操作。把镊子的顶端在 70%酒精中蘸一下, 并且在酒精灯上略略烧一下, 使镊子的顶端处于无菌状态。用镊子夹取一个无菌的塑料枪头或牙签, 蘸取少量 DH10Bac 甘油菌, 然后把蘸有菌液的塑料枪头或牙签放到装有含有卡那霉素(100 μ g/ml)和四环素(10 μ g/ml)的 3ml LB 的细菌培养试管内或装有 100 毫升或更大体积 LB 的细菌培养瓶内。37 $^{\circ}$ C, 约 200rpm 培养过夜。

3. DH10Bac 感受态细菌的制备

可以使用一步法感受态细菌制备试剂盒、超级感受态细菌制备试剂盒或其它方法进行感受态细菌的制备。