



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-1683301或800-8283301  
 订货e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## DH10Bac甘油菌(重组Bacmid制备用菌株)

产品编号	产品名称	包装
D0346	DH10Bac甘油菌(重组Bacmid制备用菌株)	200μl

### 产品简介:

- 碧云天生产的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lacZα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*ins*ABCD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。
- 使用碧云天超级感受态细菌制备试剂盒(D0302)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，利用碧云天生产的杆状病毒穿梭载体bacmid小量抽提试剂盒(D0031)提取重组bacmid DNA，将重组bacmid DNA转染进入昆虫细胞(推荐使用碧云天生产的LipoInsect™昆虫细胞转染试剂C0551)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。
- 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(Gentamicin)抗性和氨苄青霉素抗性。
- DH10Bac菌株基因型: F *mcrA* Δ(*mrr-hsdRMS-mcrBC*) Φ80*lacZ*Δ*M15* Δ*lacX74* *recA1* *endA1* *araD139* Δ(*ara,leu*)7697 *galU galK λrpsL 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。
- 关于碧云天不同甘油菌菌种的比较和选择，可参考我们的相关网页：<http://www.beyotime.com/support/strain.htm>

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D0346	DH10Bac甘油菌(重组Bacmid制备用菌株)	200μl
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20℃保存，至少3个月有效。-80℃可以长期保存。

### 注意事项:

- 使用本甘油菌时不必完全融解，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。

- 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(100μg/ml)和四环素(10μg/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℃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(100µg/ml)和四环素(10µg/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°或120°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°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(100µg/ml)和四环素(10µg/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°C，约200rpm培养过夜。

## 3. DH10Bac感受态细菌的制备

可以使用碧云天的一步法感受态细菌制备试剂盒(D0301)、超级感受态细菌制备试剂盒(D0302)或其它方法进行感受态细菌的制备。

## 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0332	2-T1甘油菌	200µl
D0337	BL21(DE3)甘油菌(蛋白诱导表达菌株)	200µl
D0339	BL21(DE3)pLysS甘油菌(低本底蛋白诱导表达用)	200µl
D0346	DH10Bac甘油菌(重组Bacmid制备用菌株)	200µl
D0351	DH5α甘油菌(常规质粒构建和扩增用菌株)	200µl
D0360	JM109甘油菌(常规质粒构建和扩增用菌株)	200µl
D0361	JM110甘油菌(Dam和Dcm甲基化缺陷菌株)	200µl
D0371	Rosetta(DE3)甘油菌(密码子兼容的蛋白诱导表达)	200µl
D0378	Stbl3甘油菌(慢病毒等逆转录病毒载体扩增用)	200µl
D0389	TG1甘油菌(快速生长菌株)	200µl
D0390	TOP10甘油菌	200µl
D0391	细菌冻存液	50ml
D0301	一步法感受态细菌制备试剂盒	200次
D0302	超级感受态细菌制备试剂盒	100次
D0031	杆状病毒穿梭载体bacmid少量抽提试剂盒	50次
D2802	pFastBac1-EGFP(杆状病毒包装阳性对照质粒)	1µg
C0551-0.5ml	LipoInsect™转染试剂	0.5ml
C0551-1.5ml	LipoInsect™转染试剂	1.5ml
C0551-7.5ml	LipoInsect™转染试剂	5×1.5ml

Version 2022.07.05